

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Perfil isotópico e contaminantes em tartaruga-comum**  
***Caretta caretta* nos mares da Madeira**

Cheila Sofia Ferreira Raposo

**Mestrado em Biologia da Conservação**

Dissertação orientada por:  
Professor Doutor José Pedro Granadeiro  
Professor Doutor Thomas Dellinger

2017



Esta dissertação de mestrado foi desenvolvida no âmbito do projeto: *Redes tróficas oceânicas: utilização de dados espaciais, informação sobre dieta e biomarcadores de predadores de topo para revelar a estrutura e funcionamento de ecossistemas pelágicos subtropicais*, financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (PTDC/MAR-PRO/0929/2014).





## Agradecimentos

Gostaria de expressar o meu sincero agradecimento a todos os que contribuíram para a realização e finalização desta dissertação de mestrado:

À Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, à Universidade de Aveiro, à Universidade da Madeira, à Estação de Biologia Marinha do Funchal e ao Parque Natural da Madeira pelo fundamental apoio logístico para a realização desta dissertação,

À Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo financiamento necessário para o desenvolvimento deste estudo,

Aos meus orientadores, José Pedro Granadeiro e Paulo Catry, por todo o apoio, partilha de conhecimentos e oportunidade de poder ficar com este tema,

Ao meu orientador, Thomas Dellinger, pelo apoio, orientação e ensinamentos práticos no mundo das tartarugas marinhas,

À Professora Doutora Maria Eduarda Pereira pela disponibilidade em me receber e ajuda na interpretação dos meus resultados,

Ao Doutor Pedro Coelho pelo apoio incansável e transmissão de conhecimentos referentes aos metais pesados,

Ao Rodrigo Maia por todo o apoio técnico e transmissão de conhecimentos na análise de isótopos estáveis,

Ao Luís Freitas e Inês Leite pela disponibilidade para a captura das tartarugas, cooperação e vontade de ajudar,

Ao senhor Francisco pela enorme simpatia e colaboração para o sucesso na obtenção dos exemplares mortos junto dos pescadores,

Aos pescadores que colaboraram e tornaram possível a obtenção dos exemplares mortos,

À Teresa e à Andreia pela amizade, companheirismo, incentivo e positivismo,

Aos meus colegas de curso, que partilharam comigo esta etapa de crescimento pessoal e profissional,

A todos os meus avós, que contribuíram para o meu crescimento enquanto pessoa, em especial à minha avó Mariana que me ensinou que a vida é curta demais e devemos aproveitar as oportunidades que nos surgem,

Um agradecimento especial aos meus pais que sempre me acompanharam e acreditaram em mim, obrigada por todo o apoio e amor incondicional,

À minha querida mana, a pessoa mais incrível, que partilha comigo o amor e dedicação aos animais, a vontade de os proteger e me incentiva a ser uma melhor pessoa,

Ao meu João pelo o seu amor todos os dias, pelo apoio e paciência. Obrigada por me motivares a alcançar os meus sonhos,

Obrigada a todos.



## Resumo

A tartaruga-comum, *Caretta caretta*, é uma espécie migratória que passa os primeiros anos de vida no alto mar, numa fase oceânica ou pelágica obrigatória também denominada de “anos perdidos”. Apesar desta fase constituir uma parte importante para o desenvolvimento dos juvenis de tartaruga-comum, é uma fase que ainda apresenta lacunas no conhecimento relativo à ecologia da espécie.

A região oceânica do arquipélago da Madeira apresenta uma posição geográfica privilegiada para o conhecimento da ecologia dos juvenis de tartaruga-comum, uma vez que se insere na área de distribuição destes juvenis no Atlântico Norte.

Atualmente não estão publicados estudos sobre o nível trófico e metais pesados para os juvenis de tartaruga-comum na região oceânica do arquipélago da Madeira. Este estudo permitirá melhorar o conhecimento da posição trófica através da análise de isótopos estáveis e dos níveis de contaminação por metais pesados em diferentes tecidos dos juvenis de tartaruga-comum para a região oceânica do arquipélago da Madeira.

Foram analisados 24 exemplares capturados vivos e 12 exemplares recolhidos mortos nos palangres derivantes de profundidade. Foram efetuadas análises de isótopos estáveis e análises de quantificação de diferentes metais pesados (mercúrio, crómio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsénio, cádmio e chumbo) em diferentes tecidos (sangue, músculo, fígado, gordura e cérebro).

Através da análise de isótopos estáveis foi demonstrado que existe uma diferença na posição trófica entre o grupo de tartarugas capturadas vivas e o grupo de tartarugas mortas nos palangres derivantes de profundidade, sendo que as últimas apresentam um valor médio mais elevado da razão isotópica de azoto. Neste estudo sugere-se que o grupo de tartarugas mortas no palangre derivante de profundidade constitui uma fração da população que apresenta especialização trófica. Não foram encontradas diferenças nas razões isotópicas de carbono para os dois grupos de tartarugas.

Os resultados das análises de quantificação de metais pesados indicam que não existem diferenças entre os níveis de concentração média de mercúrio no sangue para os dois grupos de tartarugas analisados. A gordura foi o tecido que apresentou a menor concentração média de mercúrio ao passo que o fígado foi o tecido que apresentou a maior concentração média deste metal. Os valores de mercúrio no sangue estão relacionados com os valores de mercúrio encontrados no cérebro e músculo. Observou-se ainda que poderá estar a ocorrer um aumento de mercúrio conforme o nível trófico ocupado pelas tartarugas. Verificou-se uma maior propensão para a acumulação de mercúrio na sua forma orgânica quer no músculo quer no fígado. No geral foram encontrados baixos níveis de contaminação de todos os metais pesados analisados, com exceção do ferro, zinco e arsénio. Também foram encontradas associações de alguns metais pesados com o músculo e o fígado, sendo que o músculo se encontra associada à presença de zinco, chumbo e arsénio e o fígado à presença de manganês, ferro, cobalto, cobre, cádmio e mercúrio. Com base nos resultados obtidos neste estudo e em comparação com os resultados obtidos noutros estudos, parece que região oceânica do arquipélago da Madeira é uma área geográfica que apresenta baixos níveis de contaminação.

**Palavras-chave:** *Caretta caretta*, especialização trófica, isótopos estáveis, metais pesados, região oceânica do arquipélago da Madeira





## Abstract

The loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, is a migratory species that spends the first years of their life in the open sea, within an oceanic or pelagic stage also called “the missing years”. Although this life stage represents an important period for the development of juvenile loggerhead sea turtles, there are still gaps of knowledge concerning the ecology of these species during this oceanic stage.

The oceanic region of Madeira archipelago has a privileged geographic position for the knowledge of the ecology of juvenile loggerhead sea turtles since it lies in the main area of distribution of North Atlantic juvenile loggerhead sea turtles.

There are no studies regarding the trophic niche and heavy metals for the juvenile loggerhead sea turtles in the oceanic region of Madeira archipelago. The present study will allow to improve the knowledge about the trophic position through stable isotopes analysis and the levels of contamination by heavy metals in different tissues of juvenile loggerhead sea turtles for this area.

Twenty-four specimens captured alive and twelve specimens victims of bycatch in the depth-drifting longlines were collected and analysed. Stable isotope analysis and concentrations of different heavy metals (mercury, chromium, manganese, iron, cobalt, nickel, copper, zinc, arsenic, cadmium and lead) were performed in different tissues (blood, muscle, liver, fat and brain).

Stable isotope analysis has shown that there is a difference in the trophic position between the group of turtles captured alive and the group of turtles victims of bycatch, with the latter showing a higher average value of the ratio of stable nitrogen isotope. It is suggested in the present study that the group of turtles victims of bycatch represents a fraction of the population that presents trophic specialization. Consequently, this group also presents a higher probability of death. No differences were found between the two groups of turtles regarding the values of the ratio stable carbon isotope.

Heavy metals analysis has shown that there are no differences between the average concentrations of mercury concerning the two groups of turtles analysed in this study. The adipose tissue presented the lower average concentration of mercury while liver presented the higher average concentration. The concentrations of mercury in blood seem to be closely related with the mercury concentrations found in the brain and muscle. It was noticed that it may be occurring an increase of mercury in accordance to the trophic level occupied by turtles. There has been a greater propensity for an accumulation of mercury in its organic form in both muscle and liver. In general, low levels of contamination were found for all heavy metals analysed with the exception of iron, zinc and arsenic. There were also been found associations between some heavy metals with muscle and liver. Zinc, lead and arsenic were found associated with muscle while manganese, iron, cobalt, copper, cadmium and mercury were found associated with liver. Based on the results of this study and comparing the results acquired from other studies, it seems that the oceanic region of Madeira archipelago is a geographic area with low levels of contamination.

**Keywords:** *Caretta caretta*, trophic specialization, stable isotopes, heavy metals, oceanic region of Madeira archipelago



# Índice

1.	Introdução.....	1
2.	Materiais e Métodos .....	7
2.1.	Caracterização da área de estudo.....	7
2.2.	Recolha e processamento de exemplares e amostras.....	8
2.3.	Análise de isótopos estáveis .....	9
2.4.	Determinação de mercúrio total .....	10
2.5.	Determinação de mercúrio orgânico .....	11
2.6.	Determinação de outros metais pesados.....	12
2.7.	Análise de dados.....	12
3.	Resultados .....	15
3.1.	Estrutura de tamanhos de <i>Caretta caretta</i> na região oceânica da Madeira .....	15
3.2.	Nível trófico de <i>Caretta caretta</i> na região oceânica da Madeira.....	16
3.3.	Repartição de contaminantes nos diferentes tecidos .....	18
3.3.1.	Mercúrio total .....	18
3.3.2.	Mercúrio orgânico .....	20
3.3.3.	Crómio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsénio, cádmio e chumbo .....	21
4.	Discussão.....	25
5.	Conclusões .....	33
6.	Referências bibliográficas .....	35
7.	Anexos.....	43



## Lista de Figuras

<b>Figura 2.1.</b> Localização do arquipélago da Madeira no Atlântico Norte subtropical (Delgado et al., 2010).....	7
<b>Figura 3.1.</b> Distribuição de tamanhos (comprimento direito da carapaça, SCLn-t, em milímetros) dos exemplares de <i>Caretta caretta</i> capturados vivos ( $n = 23$ ) e dos exemplares mortos ( $n = 12$ ). .....	15
<b>Figura 3.2.</b> Assinaturas isotópicas médias de azoto, $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono, $\delta^{13}\text{C}$ , de <i>Caretta caretta</i> com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) e de <i>Ommastrephes bartramii</i> com base nas amostras de músculo recolhidas ( $n = 7$ ). Os valores estão apresentados como média $\pm$ desvio-padrão.....	17
<b>Figura 3.3.</b> Assinaturas isotópicas de azoto, $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono, $\delta^{13}\text{C}$ , de <i>Caretta caretta</i> com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ). .....	17
<b>Figura 3.4.</b> Assinaturas isotópicas do azoto, $\delta^{15}\text{N}$ , das amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) em função do tamanho corporal. ....	18
<b>Figura 3.5.</b> Relação entre a concentração de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em peso seco e a $\delta^{15}\text{N}$ (‰) no conjunto das tartarugas vivas ( $n = 22$ ) e tartarugas mortas ( $n = 12$ ) com base nas amostras de sangue recolhidas. ....	19
<b>Figura 3.6.</b> Concentrações médias de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em peso seco, das amostras de sangue ( $n = 12$ ), músculo ( $n = 12$ ), fígado ( $n = 12$ ), gordura ( $n = 12$ ) e cérebro ( $n = 12$ ) das tartarugas mortas. ....	19
<b>Figura 3.7.</b> Diagrama da análise de componentes principais das concentrações médias de mercúrio total no sangue, músculo, fígado, gordura e cérebro das tartarugas mortas ( $n = 12$ ). ....	20
<b>Figura 3.8.</b> Diagrama da análise de componentes principais das concentrações médias de crómio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsénio, cádmio, chumbo e mercúrio no músculo (códigos terminados em M) e fígado (códigos terminados em F) das tartarugas mortas ( $n = 12$ ). .....	22

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 3.1.</b> Comprimento direito da carapaça (SCLn-t), comprimento direito mínimo da carapaça (SCLmin), largura direita da carapaça (SCW), comprimento curvo da carapaça (CCLn-t), comprimento curvo mínimo da carapaça (CCLmin), largura curva da carapaça (CCW), comprimento da cabeça (HL), largura da cabeça (HW), comprimento da barbatana dianteira direita (FFL), largura da barbatana dianteira direita (FFW), comprimento da garra da barbatana dianteira direita (CLW) e peso (WT) das tartarugas capturadas vivas e das tartarugas mortas. Os valores estão apresentados como média $\pm$ desvio-padrão, em milímetros (mm), exceto para o peso, que se apresenta em gramas (g). ....	16
<b>Tabela 3.2.</b> Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso seco) no músculo e fígado dos exemplares mortos de <i>Caretta caretta</i> ( $n = 12$ ). Os valores estão apresentados como média $\pm$ desvio-padrão e valores mínimo e máximo.....	21
<b>Tabela 3.3.</b> Valores das concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso seco) em tecidos de tartaruga-comum de diferentes localizações. Os valores reportados em peso fresco foram convertidos para peso seco com o valor médio de água reportado por Maffucci et al. (2005). ALD = abaixo do limite de deteção. Referências: <b>a</b> presente estudo; <b>b</b> (Jerez et al., 2010); <b>c</b> (Andreani et al., 2008); <b>d</b> (Storelli et al., 2005); <b>e</b> (Maffucci et al., 2005); <b>f</b> (Franzellitti et al., 2004); <b>g</b> (Sakai et al., 2000); <b>h</b> (Godley et al., 1999); <b>i</b> (Caurant et al., 1999); <b>j</b> (Storelli et al., 1998a); <b>k</b> (Storelli et al., 1998b); <b>l</b> (Sakai et al., 1995); <b>m</b> (Gordon et al., 1998). O tamanho corporal corresponde aos valores de SCLn-t em mm. ....	23



## Lista de Anexos

<b>Anexo 1.</b> Esquema do ciclo de vida da tartaruga-comum (Dellinger, 2008). .....	43
<b>Anexo 2.</b> Tipo/sexo, tamanho corporal (SCLn-t) peso, condição e tecidos recolhidos de 24 exemplares de tartaruga-comum capturados vivos e 12 exemplares capturados acidentalmente no palangre derivante de profundidade entre Julho e Outubro de 2016 no arquipélago da Madeira. Condição e tipo de tecido recolhidos de 7 exemplares de lulas do Pacífico Norte. ....	44
<b>Anexo 3.</b> Modelo dos questionários entregues aos mestres das embarcações para o registo da captura acidental de tartarugas marinhas no palangre derivante de profundidade durante a pesca do peixe-espada-preto. ....	45
<b>Anexo 4.</b> Pormenor da ausência da placa supra caudal do exemplar 1826. ....	46
<b>Anexo 5.</b> Concentrações de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso seco) nos diferentes tecidos analisados para os exemplares vivos ( $n = 22$ ) e para os exemplares mortos ( $n = 12$ ) de <i>Caretta caretta</i> na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm). ....	47
<b>Anexo 6.</b> Percentagem de mercúrio orgânico e mercúrio inorgânico presente nas amostras de músculo e fígado das tartarugas mortas ( $n = 9$ ). <b>a</b> músculo das tartarugas mortas; <b>b</b> fígado das tartarugas mortas. ....	48
<b>Anexo 7.</b> Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso seco) no músculo dos exemplares mortos de <i>Caretta caretta</i> ( $n = 12$ ) na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm). ....	49
<b>Anexo 8.</b> Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso seco) no fígado dos exemplares mortos de <i>Caretta caretta</i> ( $n = 12$ ) na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm). ....	49
<b>Anexo 9.</b> Código do estado de decomposição de tartarugas marinhas mortas utilizado nos relatórios de necropsias. ....	50
<b>Anexo 10.</b> Assinaturas isotópicas médias de azoto, $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono, $\delta^{13}\text{C}$ , de <i>Caretta caretta</i> com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) e assinatura isotópica média de azoto, $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono, $\delta^{13}\text{C}$ , de <i>Thunnus obesus</i> ( $n = 20$ ) com base nas amostras de sangue dos exemplares capturados na pesca comercial entre Abril e Julho de 2016 na região oceânica do arquipélago da Madeira ( <i>dados não publicados</i> ). Os valores estão apresentados como média $\pm$ desvio-padrão. ....	50





# 1. Introdução

As tartarugas marinhas são répteis que vivem exclusivamente no ambiente marinho. São espécies migratórias, com ciclos de vida longos e maturação sexual tardia, que percorrem grandes distâncias e apresentam uma ampla distribuição geográfica. O ciclo de vida das tartarugas marinhas está dividido em várias fases, onde se destacam a incubação e desenvolvimento do embrião, a eclosão, a emersão do ninho e a corrida para o mar, os primeiros dias a semanas no mar até terminar a reserva do vitelo, a fase juvenil pelágica, a fase juvenil bentónica e a fase adulta (Dellinger, 2008).

Todas as espécies de tartarugas marinhas apresentam um mecanismo de determinação do sexo dependente da temperatura durante o período de incubação (temperaturas mais elevadas determinam o nascimento de fêmeas) e todas enfrentam várias ameaças durante o seu período de vida, sendo suscetíveis a impactos antropogénicos em todos os estágios de vida (Hamann et al., 2010). Este grupo de animais marinhos é especialmente difícil de estudar devido à sua natureza solitária, longa duração da fase pelágica e elevada capacidade de mergulho em apneia (Maffucci et al., 2005; Jerez et al., 2010). Existem atualmente sete espécies de tartarugas marinhas, sendo que cinco destas podem ser encontradas na região oceânica em torno do arquipélago da Madeira: a tartaruga-de-couro (*Dermochelys coriacea* Vandelli, 1761), a tartaruga-comum (*Caretta caretta* Linnaeus, 1758), tartaruga-verde (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758), a tartaruga-de-escamas (*Eretmochelys imbricata* Linnaeus, 1766) e a tartaruga-de-Kemp (*Lepidochelys kempii* Garman, 1880). Das cinco espécies, a tartaruga-comum é a mais frequente nas águas da Madeira (Dellinger, 2008).

A tartaruga-comum é uma espécie migratória que tem uma ampla distribuição mundial em águas tropicais, subtropicais e temperadas (Parker et al., 2005). Brongersma (1972) sugeriu que os exemplares de tartaruga-comum que ocupam as águas do Atlântico leste provêm das praias de nidificação do Atlântico oeste. De facto, a distribuição de tamanhos dos exemplares encontrados nas águas do Atlântico leste difere da distribuição de tamanhos dos exemplares de tartaruga-comum que ocorrem nas águas do Atlântico oeste (Carr, 1986; Bolten et al., 1993, 1998; Bjørndal et al., 2000). Com base na distribuição de tamanhos, Carr (1986) formulou a hipótese de que os exemplares de tartaruga-comum recém-eclodidos emergem das praias de nidificação na costa este dos Estados Unidos da América e entram no Giro do Atlântico Norte, onde são transportados até ao Atlântico este, e passam pelas águas dos Açores, Madeira, Canárias e provavelmente Cabo Verde antes de retornarem ao Atlântico oeste. Esta hipótese foi confirmada por estudos genéticos que ligam os juvenis do Atlântico este às populações nidificantes do Atlântico oeste (Bolten et al., 1998; Monzón-Argüello et al., 2009; Mansfield et al., 2014). A utilização de marcadores moleculares baseados em sequências da região controlo do DNA mitocondrial demonstrou que todos os exemplares juvenis provenientes da zona pelágica do Atlântico este pertenciam às populações nidificantes do sudeste dos Estados Unidos e da Península de Yucatán, no México (Bolten et al., 1998). A hipótese da migração transatlântica também foi confirmada pela recaptura em águas portuguesas (Madeira, Açores e Sesimbra) de três tartarugas-comuns marcadas nos EUA (Dellinger, 2008) e pela recaptura no Atlântico oeste de cinco tartarugas-comuns marcadas no Atlântico este (Bolten et al., 1998). Também é possível que ocorram nas águas da Madeira exemplares provenientes de Cabo Verde e do Mediterrâneo, uma vez que já foi verificada a existência de tartarugas de origem cabo-verdiana na Madeira e foi recapturada em Portugal continental uma tartaruga marcada no Mar Jónico (Dellinger, 2008).

Os juvenis, antes de iniciarem a sua migração de volta às zonas costeiras dos Estados Unidos da América (zonas de alimentação dos juvenis imaturos, subadultos e adultos) e praias de nidificação, iniciam uma

fase oceânica ou pelágica obrigatória com duração de 6 a 12 anos, sendo esta a sua principal fase de crescimento (Bjorndal et al., 2000, 2003) (Anexo 1). Esta fase pelágica obrigatória, também denominada de “anos perdidos” ou “fase de vida perdida” (Bolten et al., 1998) é pouco conhecida devido à dificuldade inerente de estudar estes animais embora seja uma fase muito importante para a espécie e durante a qual a mesma pode ser encontrada nas águas da Madeira. Durante esta fase os juvenis de tartaruga-comum encontram-se habitualmente associados a áreas de frentes oceânicas e zonas pouco profundas com maior concentração de clorofila (montes submarinos e zonas de *upwelling*) (McCarthy et al., 2010), assim como comunidades flutuantes de sargaço – que ocorrem em zonas de convergência no Atlântico Norte (Boyle e Limpus, 2008). Estas associações conferem refúgio contra os predadores e representam também zonas de concentração de alimento (Carr, 1986, 1987; Witherington, 2002; Frick et al., 2009; Witherington et al., 2012). Estudos demográficos revelam que a morte de juvenis/subadultos e adultos nas populações de *Caretta caretta* tem um impacto mais drástico do que a morte ou perda de ovos, neonatos e pré-juvenis, pelo que a proteção e estudo desta espécie se deve focar nos juvenis (na sua fase pelágica) e adultos (Crouse et al., 1987; Carreras et al., 2004).

Relativamente à dieta, sabe-se que, em diferentes áreas geográficas, os animais se alimentam de uma grande diversidade de presas, pelo que esta versatilidade sugere que se trata de um predador generalista (Plotkin et al., 1993). A análise de conteúdos do trato digestivo de 35 exemplares de tartaruga-comum encontrados mortos nas águas da Madeira entre 1996 e 2005, revelou a presença de plásticos, madeiras, rochas, fios de pesca e/ou penas associada quase sempre a material gelatinoso (Moreira, 2006). Outro estudo efetuado nos Açores com tartarugas-comuns capturadas acidentalmente nas artes de pesca revela que durante esta fase pelágica a tartaruga-comum é um consumidor oportunista que se alimenta de uma variedade de organismos planctónicos e neustónicos (Frick et al., 2009). Os itens alimentares mais abundantes presentes nas amostras estomacais do estudo supracitado foram os sifonóforos, nudibrânquios, gastrópodes pelágicos (animais e cápsulas de ovos), massas de ovos de insetos marinhos e caranguejos. Contudo, e tendo em atenção a importância relativa de cada item alimentar para a dieta, os recursos alimentares mais importantes foram os cnidários (incluindo *Velella velella* Linnaeus, 1758, *Pelagia noctiluca* Forsskål, 1775 e *Apolemia uvaria* Lesueur, 1815) (Frick et al., 2009). Nas regiões oceânicas da Madeira e dos Açores a análise do conteúdo intestinal de animais vivos revelou que estas se alimentam de salpas pelágicas, gastrópodes e medusas (Siphonophora maioritariamente, Scyphomedusae e Hydromedusae) (van Nierop e den Hartog, 1984).

A tartaruga-comum encontra-se classificada globalmente como “Vulnerável” segundo os critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), sendo considerada “em Perigo”, de acordo com a Lista Vermelha de Portugal (Oliveira et al., 2005). As tartarugas marinhas encontram-se protegidas através de legislação nacional e internacional: Convenção CITES (Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies Selvagens da Fauna e da Flora Ameaçadas de Extinção), Convenção de Bona (Convenção sobre a Conservação das Espécies Migradoras Pertencentes à Fauna Selvagem), Convenção de Berna (Convenção Relativa à Proteção da Vida Selvagem e do Ambiente Natural na Europa), Diretiva Habitats com o Decreto-Lei 156-A/2013 (relativa à conservação dos habitats naturais e da flora e fauna selvagem) e o Decreto Legislativo Regional nº18/85/M de aplicação na Madeira. Este último veio proibir a captura, abate e comercialização de todas as espécies de tartarugas marinhas que ocorrem nas águas da Madeira desde 1985 (Dellinger, 2008). As principais ameaças a esta espécie são essencialmente de origem antropogénica e incluem a captura accidental nas artes de pesca, a ingestão de lixo marinho associada à poluição dos oceanos, a destruição dos habitats de nidificação e a colisão com embarcações (Carreras et al., 2004; Dellinger, 2008). A captura accidental tem sido identificada como o principal fator de declínio de várias espécies da megafauna marinha (Wallace et al., 2010) sendo esta também a principal causa de mortalidade dos juvenis de tartaruga-comum (Carreras et

al., 2004; Cardona et al., 2009; Lucchetti e Sala, 2010). Estima-se que mais de 50000 espécimes são capturados por ano em palangres pelágicos com uma mortalidade de 40% maioritariamente em Espanha, Marrocos, Itália, Grécia, Malta e Líbia (Lucchetti e Sala, 2010). Em Portugal a espécie também é afetada pelas capturas acidentais em palangres derivantes de profundidade e de superfície (Encarnação, 1998; Ferreira, 2001). Os juvenis de *Caretta caretta* são capazes de mergulhar para profundidades superiores a 200 metros, contudo permanecem geralmente acima dos 30 metros de profundidade (Dellinger, 2000; Dellinger & Ferreira, 2005). Assim, a interação com os aparelhos de pesca acontece essencialmente nos primeiros 20 metros da coluna de água (Dellinger e Ferreira, 2005). O palangre derivante de profundidade é a arte de pesca utilizada pela frota pesqueira do Funchal para a captura de peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839), sendo que o isco maioritariamente utilizado é a lula do Pacífico Norte (*Ommastrephes bartramii* Lesueur, 1821). O aparelho de pesca atinge profundidades entre os 700 a 1300 metros e permanece submerso durante várias horas pelo que os animais ficam presos nos anzóis (Lucchetti e Sala, 2010). Existe, no geral, falta de informação sobre a incidência das capturas acidentais de tartarugas marinhas em locais de sobreposição com métodos de pesca artesanais (Wallace et al., 2010), sendo que a Madeira não é exceção. O efeito dos palangres derivantes nesta região tem um impacto muito negativo nos juvenis de *Caretta caretta*, uma vez que reduzem o número de indivíduos que poderiam chegar à fase reprodutiva.

O arquipélago da Madeira (~33°N; 17°E), situado a cerca de 1000 km do continente Europeu e a 500 km do litoral Africano, apresenta uma posição geográfica privilegiada uma vez que se situa no meio da área de distribuição dos juvenis de tartaruga-comum no Atlântico Norte (Bolten et al., 1993; Dellinger, 2003b; Delgado et al., 2010), oferecendo boas condições para o estudo da fase pelágica desta espécie. O fenómeno do efeito de massa – perturbação topográfica produzida por uma ilha no oceano e os seus efeitos nos ecossistemas marinhos (Caldeira et al., 2002) – produzido pela ilha da Madeira origina uma área de sotavento a sul (Caldeira et al., 2001) propícia ao avistamento de tartarugas marinhas.

Apesar de esta região albergar provavelmente uma proporção importante das populações juvenis e imaturas da tartaruga-comum, existem ainda lacunas muito importantes no conhecimento da ecologia das tartarugas. Essa informação é muito importante, não só do ponto de vista da conservação da espécie, mas também porque nos pode fornecer pistas relevantes sobre a estrutura e funcionamento dos ecossistemas marinhos pelágicos, sobre os quais pouco se sabe. Não estão publicados, por exemplo, estudos detalhados sobre o nível trófico e sobre a prevalência de metais pesados em *Caretta caretta* na região oceânica da Madeira (Encarnação, 1998; Ferreira, 2001).

No que se refere à dieta das tartarugas, existe pouca informação para a Madeira (Encarnação, 1998; Ferreira, 2001) dada a dificuldade de recolha de informação sobre a ecologia alimentar de tartarugas marinhas no seu habitat natural. A análise de dejetos e a observação direta do comportamento alimentar constituem metodologias pouco práticas, sendo que as técnicas de lavagem gástrica são intrusivas e requerem a presença de um profissional experiente (Eckert et al., 1999). Por outro lado, as necropsias são um método que limitam a recolha de informação aos exemplares mortos (Schuyler et al., 2014) e têm como obstáculo o estado de decomposição e/ou digestão dos itens alimentares (Wolke e George, 1981). A análise de isótopos estáveis é uma técnica que tem sido cada vez mais utilizada para apoiar estudos relacionados com a ecologia alimentar de vertebrados, sobretudo para espécies de difícil observação no seu habitat natural (Reich et al., 2007; Newsome et al., 2010). Esta técnica tem sido muito utilizada para examinar a estrutura e dinâmica das cadeias tróficas através de inferências baseadas no nicho isotópico (Layman et al., 2012) e, no caso particular de tartarugas marinhas, para estudar a ecologia trófica, a utilização do habitat bem como os seus padrões de migração (Ceriani et al., 2014; Carpentier et al., 2015). No campo da ecologia, a análise de isótopos estáveis é uma ferramenta bastante

útil pois permite, de entre um conjunto de fontes de alimento conhecidas determinar quais são as mais importantes e conhecer a posição trófica da espécie em estudo relativamente a outras. Permite ainda avaliar a utilização do habitat assim como inferir acerca de movimentos de migração e detetar alterações e/ou variações na dieta entre diferentes segmentos populacionais, uma vez que a composição de isótopos estáveis nos tecidos de um consumidor reflete a composição de isótopos estáveis das suas presas e habitat (Arthur et al., 2008; Hall et al., 2015).

A análise das razões isotópicas quantifica a abundância de átomos do mesmo elemento que diferem no número de neutrões. Os isótopos mais utilizados nos estudos referentes às cadeias tróficas são os isótopos de carbono (C) e de azoto (N), embora, por vezes, se revele vantajoso a utilização de isótopos de enxofre (S), oxigénio (O) e deutério (D) (Layman et al., 2012). A razão isotópica,  $\delta$ , corresponde ao rácio entre o isótopo pesado (massa molar maior) e o isótopo leve (massa molar menor) e expressa-se normalmente em relação a um material de referência ( $\delta X = [(R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1] \times 10^3$ ), em partes por mil (‰). As razões isotópicas de azoto  $\delta^{15}\text{N}$  e de carbono  $\delta^{13}\text{C}$  em diferentes tecidos estão sujeitas a alterações previsíveis na razão do isótopo mais pesado em relação ao isótopo mais leve (discriminação) devido a processos químicos, biológicos e físicos (DeNiro e Epstein, 1981; Tieszen et al., 1983; Peterson e Fry, 1987). A  $\delta^{15}\text{N}$  é alterada durante o metabolismo dado que o  $^{15}\text{N}$  é preferencialmente retido no organismo durante o processo de excreção (Arthur et al., 2008) o que causa um enriquecimento de cerca de 3 a 4‰ da  $\delta^{15}\text{N}$  nos tecidos de um consumidor em relação à sua dieta. Este enriquecimento nos sucessivos níveis tróficos torna a  $\delta^{15}\text{N}$  uma boa ferramenta para estimar a posição trófica (DeNiro e Epstein, 1981; Minagawa e Wada, 1984; Peterson e Fry, 1987; Hatase et al., 2002; Post, 2002). Em oposição, a  $\delta^{13}\text{C}$  apenas sofre um enriquecimento trófico de cerca de 1‰ por nível trófico, o que significa que permanece quase inalterada conforme o carbono se movimenta ao longo da cadeia trófica (Rounick e Winterbourn, 1986; France e Peters, 1997; Hatase et al., 2002; Post, 2002). A  $\delta^{13}\text{C}$  pode contudo ser utilizada para determinar as fontes de carbono de um consumidor quando as assinaturas isotópicas das fontes são diferentes (Post, 2002). Nos ecossistemas marinhos existe um gradiente espacial da  $\delta^{13}\text{C}$ . As regiões oceânicas apresentam valores mais negativos em comparação com as regiões neríticas, uma vez que o fitoplâncton apresenta uma assinatura isotópica de carbono mais negativa do que muitas plantas costeiras (France, 1995), o que permite determinar o local de alimentação de um consumidor (oceânico ou nerítico) (Post, 2002; Hall et al., 2015).

O estudo da acumulação de metais pesados na fauna marinha é igualmente um assunto muito importante, devido ao seu efeito tóxico que estes elementos apresentam nos organismos, especialmente nos predadores e nas espécies com longos ciclos de vida como as tartarugas marinhas (Maffucci et al., 2005; Costa et al., 2009; Jerez et al., 2010). A importância do estudo de contaminantes advém também do facto de estes estudos poderem ajudar a compreender as relações tróficas devido à ocorrência de processos de bioacumulação e biomagnificação (abaixo descritos). O grau de exposição dos animais a diferentes contaminantes pode fornecer pistas importantes sobre a qualidade geral do ambiente, para além de permitir estimar o potencial risco que esta exposição constitui para a conservação e sobrevivência das espécies (García-Fernández et al., 2009). A poluição marinha tem sido considerada mundialmente uma das maiores ameaças à sobrevivência das tartarugas marinhas (Storelli et al., 2005; Afonso et al., 2007; Jerez et al., 2010), sendo que longo ciclo de vida destes animais dificulta a determinação da fonte e da origem geográfica da contaminação (Torrent et al., 2004).

Os metais pesados são elementos vestigiais que fazem parte da constituição natural das rochas e do solo e, como tal, podem ser introduzidos nos ecossistemas marinhos através de processos naturais como a meteorização e erosão, transporte de sedimentos pelo vento e atividade vulcânica (Maffucci et al., 2005; Torres et al., 2016). Devido à atividade vulcânica natural da ilha da Madeira, os sedimentos insulares

são constituídos por metais pesados que são possivelmente libertados nas águas costeiras (Afonso et al., 2007). Para além da via natural, a entrada de metais pesados nos ecossistemas marinhos pode ter origem antropogénica através de processos como a extração metalúrgica e a utilização de combustíveis fósseis. Neste caso, os metais são libertados para o mar expondo os organismos marinhos a concentrações muito acima dos níveis considerados basais, levando a ritmos de assimilação muito elevados (Maffucci et al., 2005; Jerez et al., 2010; Torres et al., 2016).

O mercúrio (Hg) é um dos metais mais tóxicos que se conhecem (Rice et al., 2014) e ocorre em várias formas no meio aquático conforme o seu estado de oxidação-redução (Gworek et al., 2016). Este metal produz efeitos mutagénicos e teratogénicos (Calderón et al., 2003; Tchounwou et al., 2003) com potencial de bioacumulação e biomagnificação (Coelho et al., 2010, 2013; Clayden et al., 2015; Matulik et al., 2017). O processo de bioacumulação corresponde à transferência do metal a partir de uma fonte para um organismo, por exemplo a partir de água, sedimentos ou comida, e depende do nível de contaminação do meio ambiente (área geográfica) e de fatores bióticos como a dieta e a posição trófica que o organismo ocupa. A bioacumulação reflete um balanço entre a quantidade de metal que é ingerida, excretada ou retida e a sua biodisponibilidade (Trevizani et al., 2016) e é um processo específico da espécie (Barron, 2003) que ocorre frequentemente nos ecossistemas marinhos com efeitos predominantes nos níveis tróficos superiores (Matulik et al., 2017). Por sua vez, o processo de biomagnificação é um processo que ocorre ao nível da cadeia trófica, quando em cada nível trófico os consumidores absorvem mais Hg a partir das suas presas do que aquele que é excretado provocando um excesso de acumulação. Desta forma, o Hg é absorvido pelos microrganismos na base da cadeia trófica e aumenta consequentemente a sua concentração de um nível trófico para o seguinte (Marshall et al., 2016).

A bioacumulação de Hg nos seres vivos pode ocorrer sob duas formas: Hg (II) na sua forma inorgânica e metilmercúrio (MeHg), na sua forma orgânica. O MeHg, forma mais tóxica de Hg, é também a forma mais comum presente no meio ambiente e a forma mais comumente acumulada pelos organismos aquáticos (Storelli et al., 2005; Coelho et al., 2006; Gworek et al., 2016). O Hg é o único metal que apresenta capacidade de biomagnificação ao longo da cadeia trófica. Contudo os restantes metais podem também bioacumular, por exemplo, cádmio (Cd) e chumbo (Pb) (Costa et al., 2009), pelo que a sua quantificação é bastante relevante. Devido à sua toxicidade, persistência e bioacumulação, o Hg, o Cd e o Pb são considerados dos metais mais perigosos presentes no ecossistemas marinhos (Torres et al., 2016). A exposição a contaminantes pode ocorrer de duas formas: através da absorção direta pela superfície corporal de metais dissolvidos na água ou através da ingestão de metais particulados (Wang e Fisher, 1999; Rainbow, 2002). A forma de exposição vai depender da espécie, da dieta e da biodisponibilidade do metal (Rainbow, 2002). Vários autores sugerem que a acumulação de metais pesados na tartaruga-comum se deve à sua ingestão através da dieta, sendo portanto de esperar diferenças interespecíficas na quantidade de contaminantes conforme a dieta (Caurant et al., 1999; Godley et al., 1999; Sakai et al., 2000; García-Fernández et al., 2009).. As tartarugas marinhas têm despertado um grande interesse como bioindicadores para a poluição de metais pesados nos ecossistemas marinhos devido ao seu longo ciclo de vida que permite a bioacumulação nos seus tecidos através da dieta, sedimentos e água (Andreani et al., 2008; Jerez et al., 2010).

Apesar da fase juvenil pelágica representar uma parte importante do ciclo de vida da tartaruga-comum, pouco se conhece sobre esta fase. É contudo sabido que esta espécie é particularmente suscetível à captura em palangre derivante de profundidade (destinado à captura de peixe-espada-preto). Assim, uma análise mais detalhada da dieta e ecologia alimentar desta espécie podem ajudar a perceber se toda a população que passa pelas águas da Madeira está ameaçada ou se poderá existir uma fração desta

população que seja mais suscetível à morte nos palangres derivantes devido à adoção de um método de procura de alimento dirigido ao isco. Por outro lado, a quantificação de metais pesados é importante para uma melhor compreensão dos níveis de contaminação e bioacumulação nos juvenis desta espécie na região oceânica do arquipélago da Madeira, e permite estabelecer valores de bases para comparação com outros grupos taxonómicos e com outros locais.

Este estudo tem como principais objetivos:

- Investigar se os animais capturados em palangre representam uma amostra aleatória da população em geral, ou se existe um segmento populacional de características diferenciadas que está em maior risco de captura;
- Caracterizar a posição trófica dos juvenis de *Caretta caretta* na região oceânica do arquipélago da Madeira, através da comparação do nicho isotópico ocupado por exemplares capturados vivos e exemplares mortos no palangre derivante de profundidade;
- Caracterizar os níveis de contaminação por metais pesados em diferentes tecidos dos juvenis de *Caretta caretta* na região oceânica do arquipélago da Madeira e comparar os dados obtidos nesta região com valores publicados para outras regiões de ocorrência desta espécie.

## 2. Materiais e Métodos

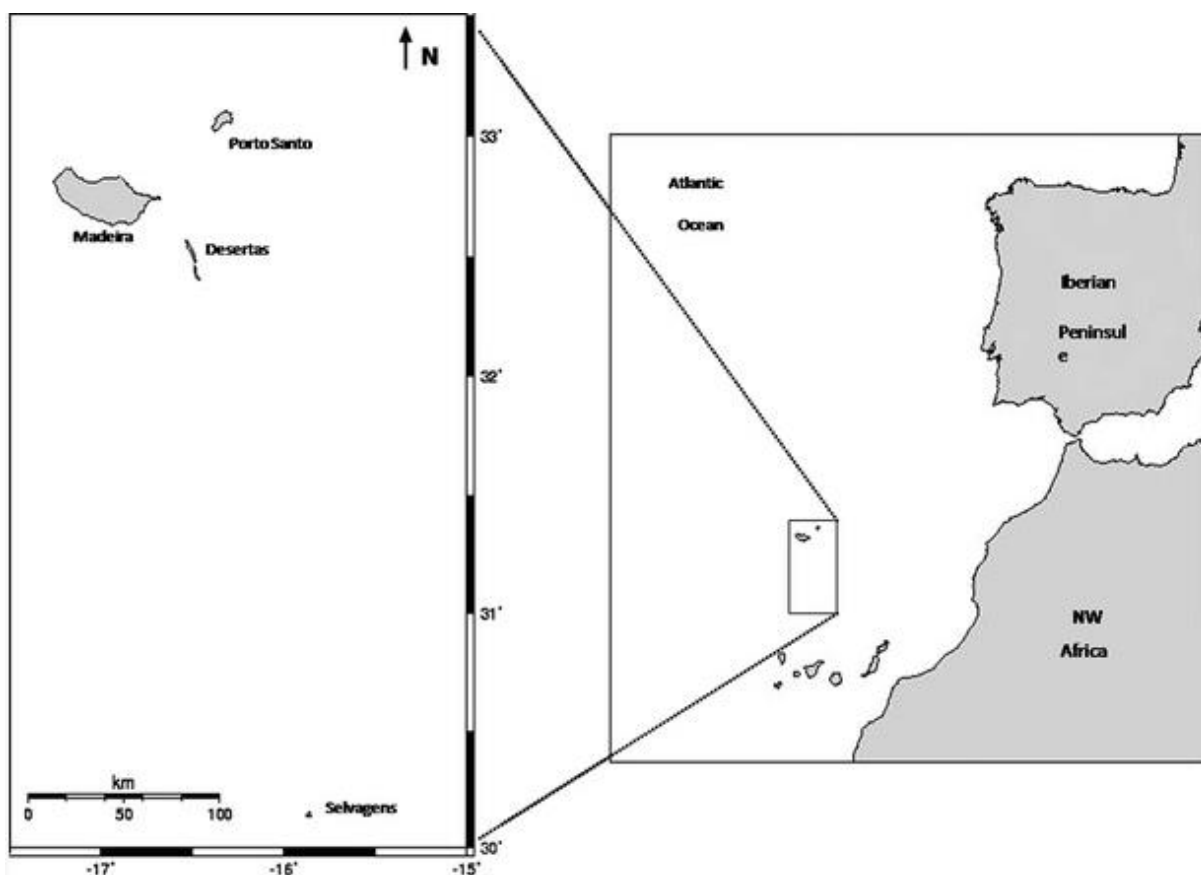
### 2.1. Caracterização da área de estudo

Este estudo foi realizado na região oceânica do arquipélago da Madeira e Desertas que se situa no Atlântico Norte subtropical (Figura 2.1).

Nesta região as correntes marinhas de superfície pertencem ao sistema geral de circulação do Atlântico Norte, sendo parcialmente condicionadas pela ação do anticiclone dos Açores. A região ao redor do arquipélago da Madeira é banhada por uma corrente superficial dominante, a Corrente das Canárias, que resulta da ação conjunta de um ramo da corrente do Golfo, a Corrente dos Açores, e da Corrente de Portugal (Delgado et al., 2010).

A temperatura média mensal da água do mar é relativamente alta e varia regularmente durante o ano entre aproximadamente 18°C e 23°C (Costaa et al., 2014).

Existe uma grande diversidade de organismos marinhos que habitam a região pelágica do arquipélago da Madeira, onde se incluem algas, cnidários, peixes, aves, répteis e mamíferos marinhos (Alves et al., 2001; Granadeiro et al., 2006; Wirtz, 2007; Wirtz et al., 2008; Dinis et al., 2016).



**Figura 2.1.** Localização do arquipélago da Madeira no Atlântico Norte subtropical (Delgado et al., 2010).

## 2.2.Recolha e processamento de exemplares e amostras

O trabalho e a recolha de amostras biológicas decorreram sob autorização do Parque Natural da Madeira (PNM/SRARN). As amostras recolhidas estão apresentadas no Anexo 2.

Os exemplares de *Caretta caretta* foram capturados entre Julho e Outubro de 2016, altura em que se avista um maior número de tartarugas marinhas (Dellinger, 2008).

Foram capturados 24 exemplares vivos durante saídas para o mar, a partir de um barco, nas águas costeiras da ilha da Madeira e Desertas, com recurso a um camaroeiro de grandes dimensões. As capturas foram efetuadas em dias de mar calmo e exposição solar direta durante a atividade de termorregulação das tartarugas conforme descrito em Dellinger et al. (1997). Este comportamento de regulação da temperatura é comum nas tartarugas marinhas e permite aumentar a eficiência digestiva, controlar a porção de epibiontes que se instala na superfície corporal e na carapaça e melhorar a síntese de vitamina D (Mansfield et al., 2014). Após o seu avistamento, procedeu-se à aproximação a baixa velocidade e por trás do exemplar de forma a que não fosse detetada a nossa presença. Após a sua captura, as tartarugas vivas foram transportadas em caixas de plástico para a Estação de Biologia Marinha do Funchal, onde foram examinadas e mantidas em condições adequadas de pernoita. No dia seguinte e após amostragem biológica procedeu-se à libertação dos exemplares através da colaboração com as empresas marítimo-turísticas. Os exemplares foram mantidos nas caixas de plástico até serem libertados em alto mar pelos operadores marítimo-turísticos das empresas sediadas no Porto do Funchal.

Foram também obtidos 12 exemplares mortos em palangre através de colaboração com alguns pescadores locais pertencentes à frota pesqueira do Funchal destinada à captura de peixe-espada-preto. Para as embarcações que se disponibilizaram a colaborar com este estudo, foram emitidas licenças pelo Parque Natural da Madeira, entidade oficial que supervisiona as espécies protegidas na área de estudo, que permitiam a recolha e permanência de tartarugas marinhas mortas a bordo das embarcações desde o momento da captura até ao momento da sua entrega no Entrepasto Frigorífico do Serviço de Receção do Pescado da Direção Regional de Pescas (DRP). Foram entregues questionários (Anexo 3) aos mestres das embarcações e solicitada a recolha das tartarugas mortas, tendo sido dada a indicação para que se libertassem quaisquer tartarugas que permanecessem vivas no momento de recolha do palangre. As tartarugas mortas foram congeladas e mantidas a bordo, tendo sido entregues no Entrepasto Frigorífico da DRP, onde foram devidamente etiquetadas e armazenadas em arcas frigoríficas no Entrepasto Frigorífico do Funchal, até à sua utilização para necropsia.

Todos os exemplares (vivos e mortos) de *Caretta caretta* foram sujeitos a procedimentos padrão de biometria definidos por Bolten (1999) e outros (Dellinger, *comunicação pessoal*). Foram registadas as seguintes medidas, em milímetros: comprimento direito da carapaça (SCLn-t), comprimento direito mínimo da carapaça (SCLmin), largura direita da carapaça (SCW), comprimento curvo da carapaça (CCLn-t), comprimento curvo mínimo da carapaça (CCLmin), largura curva da carapaça (CCW), comprimento da cabeça (HL), largura da cabeça (HW), comprimento da barbatana dianteira direita (FFL), largura da barbatana dianteira direita (FFW), comprimento da garra da barbatana direita (CLW). Também foi registado o peso (WT) em gramas de cada exemplar. Todas as tartarugas mortas foram alvo de necropsia na Estação de Biologia Marinha do Funchal, tendo-se utilizado o comprimento direito da carapaça (SCLn-t) como indicador do tamanho corporal. A descrição das classes de tamanho dos exemplares de *Caretta caretta* capturados vivos foi feita com base em apenas 23 exemplares pois não foi possível obter o valor do comprimento direito da carapaça para o exemplar 1826 devido à ausência da placa supra caudal (Anexo 4).



Não foi possível fazer a determinação do sexo através de laparoscopia devido a uma avaria no equipamento de laparoscopia. Com base numa longa série histórica de capturas na região, observou-se que os resíduos da regressão entre o comprimento direito da carapaça (SCLn-t) e a distância da cloaca à ponta da cauda (PTL) eram manifestamente bimodais (Dellinger, *comunicação pessoal*). Deste modo, foi possível distinguir os tipos 1 – provavelmente masculino e 2 – provavelmente feminino, correspondendo a resíduos positivos e negativos, respetivamente (Dellinger, *em preparação*).

Para as tartarugas capturadas vivas, e após a análise biométrica, apenas foi recolhido sangue. Foi recolhida uma quantidade máxima de até 4 ml por tartaruga do seio dorsal pós-occipital. Uma parte do sangue (três a quatro gotas) foi utilizado para análise isotópica e outra parte para um tubo com heparina de sódio (Vacuette NH Sodium Heparin, referência 454051) para a quantificação de metais pesados. O sangue armazenado no tubo com heparina de sódio foi imediatamente congelado a -80°C e o sangue armazenado no tubo eppendorf foi colocado na estufa a 40°C durante 24 horas, tendo depois sido congelado a -80°C. Nas tartarugas mortas, e também após a análise biométrica, foram efetuadas necropsias segundo o manual de necropsias para tartarugas marinhas de Wolke e George (1981). Foram recolhidos cinco tipos de tecido (sangue, músculo, fígado, gordura e cérebro) e os conteúdos do sistema digestivo divididos por secções (esófago, estômago, intestino grosso e intestino delgado) que foram congelados a -80°C.

Também foram recolhidas amostras de lula do Pacífico Norte (*Ommastrephes bartramii*) durante a realização das necropsias às tartarugas mortas e diretamente com os pescadores locais, que a utilizam como isco no palangre para o peixe-espada-preto. Foram recolhidas seis amostras de lula do Pacífico Norte detetadas durante as necropsias no esófago (4 amostras) e no estômago (2 amostras) das tartarugas mortas e uma foi adquirida junto a uma embarcação que se encontrava na preparação do isco no Porto do Funchal a 31 de Janeiro de 2017.

Os exemplares de lula do Pacífico Norte são comprados pelos mestres das embarcações ou empresas do Funchal que comercializam pescado a empresas chinesas que vendem esta espécie a preços reduzidos. O local de origem destas amostras é o Oceano Pacífico (Zona 61 de acordo com as zonas de captura determinadas pela FAO) e a arte de pesca empregue são os aparelhos de anzol.

### 2.3. Análise de isótopos estáveis

Para determinação das razões isotópicas de N e C foram analisadas 24 amostras de sangue de tartarugas capturadas vivas, 12 amostras de sangue de tartarugas mortas e 7 amostras de músculo de lulas do Pacífico Norte.

Para as análises de isótopos estáveis, optou-se por não se proceder à extração de lípidos dos tecidos. Segundo Carpentier et al. (2015) a razão C:N para amostras de sangue de *Caretta caretta* é inferior a 3,5, o que indica que a presença de lípidos neste tecido é muito baixa para afetar os resultados. Para além disso, e de acordo com Reich et al. (2008), a quantidade reduzida de sangue utilizada não permitiu a sua deslipidificação.

Para estas análises, todas as amostras foram secas na estufa a 50-60°C durante cerca de 72 a 96 horas. Posteriormente, foram moídas com o auxílio de um almofariz até se obter um pó fino e homogéneo, pesadas entre 0,8 e 1 mg com recurso a uma microbalança de precisão e encapsuladas em estanho. Os valores das razões isotópicas de C e N foram determinados por espectrometria de massa de razão de

isótopos estáveis em modo de fluxo contínuo (CF-IRMS) (Preston e Owens, 1985). Este processo ocorreu num espectrómetro de massa Sercon Hydra 20-22 (Sercon, Reino Unido), acoplado a um Analisador Elementar EuroEA (EuroVector, Itália), que efetua a preparação automática das amostras por combustão de Dumas. Foram utilizados os materiais de referência Protein Standard OAS (Elemental Microanalysis, Reino Unido), Sorghum Flour Standard OAS (Elemental Microanalysis, Reino Unido) e IAEA-N1 (IAEA, Vienna, Austria). As razões isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e azoto ( $\delta^{15}\text{N}$ ) foram calculadas como a diferença relativa (‰) entre a amostra e os padrões convencionais (escala determinada pelo PeeDee Belemnite, PDB para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\text{N}_2$  no ar atmosférico para os valores de  $\delta^{15}\text{N}$ ) segundo Equação 2.1, onde  $X = \delta^{13}\text{C}$  ou  $\delta^{15}\text{N}$  e  $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$  ou  ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$ . A incerteza das análises, calculada a partir de seis a nove réplicas de padrões de laboratório e intercaladas em cada conjunto de análises, foi igual ou inferior a 0,1‰. As composições elementares de C e N foram determinadas concomitantemente às determinações das razões isotópicas. As determinações das razões isotópicas foram levadas a cabo no LIE-SIIAF (Laboratório de Isótopos Estáveis – Stable Isotopes and Instrumental Analysis Facility) da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

#### Equação 2.1

$$\delta X = \left( \frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} - 1 \right) \times 1000$$

## 2.4.Determinação de mercúrio total

A quantificação de mercúrio total (Hg total) foi feita em 22 amostras de sangue de tartarugas capturadas vivas. Nas 12 tartarugas mortas foram analisadas as concentrações de Hg total no sangue, músculo, fígado, cérebro e gordura.

O Hg total foi quantificado através de espectrometria de absorção atómica após decomposição térmica das amostras com recurso a um analisador avançado de mercúrio, LECO AMA-254. Este método requer uma quantidade mínima de amostra (entre 2 a 5 mg), não sendo necessário realizar digestões prévias. Todas as amostras foram inicialmente pesadas numa balança de alta precisão, para determinação do peso fresco, em miligramas. De seguida foram liofilizadas a uma temperatura de  $-60^{\circ}\text{C}$  durante tempo variável consoante o tecido e quantidade de amostra (sangue, músculo, fígado e cérebro de tartarugas marinhas 24 a 48 horas, gordura de tartarugas marinhas 48 a 72 horas e músculo de lulas do Pacífico Norte 36 horas). Após a liofilização, todas as amostras foram novamente pesadas para determinação do peso seco. As amostras secas e homogeneizadas foram posteriormente colocadas num barco de níquel previamente limpo no analisador de mercúrio. O processo envolve a secagem das amostras antes da sua combustão a  $750^{\circ}\text{C}$  numa atmosfera de  $\text{O}_2$ . Subsequentemente o vapor de Hg libertado pelas amostras fica retido na superfície de um amalgamador de ouro que é posteriormente aquecido a  $900^{\circ}\text{C}$  para libertar quantitativamente o Hg. A descrição detalhada desta técnica pode ser consultada em Costley et al. (2000).

A precisão do equipamento foi aferida diariamente duas vezes (no início e no fim do dia), com análises de material de referência certificado (MRC), permitindo a comparação entre o valor obtido na análise do MRC com o valor certificado (RELACRE (Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal), 2000). Foi utilizado TORT-2 (hepatopâncreas de lagosta), material de referência do National Research Council do Canadá com concentração certificada de  $0,27 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para as todas as amostras exceto as de lula do Pacífico Norte. Para estas amostras foi utilizado NIST 2976 (tecido de mexilhão), com concentração certificada de  $0,061 \text{ mg kg}^{-1}$ . A correção dos resultados foi feita com base nos valores de

recuperação do material de referência segundo a Equação 2.2. Esta equação permite corrigir a variação diária na resposta do equipamento e o declínio de precisão devido à contaminação do catalisador. Entre amostras foram sempre realizadas análises de brancos para controlar o efeito de memória entre análises. O critério de aceitação dos resultados foi estabelecido para valores de desvio-padrão relativo inferiores a 10%. Quer isto dizer que foram sempre feitas pelos menos duas réplicas concordantes com o valor do desvio-padrão relativo inferior a 10%. Acima deste valor, foram realizadas mais réplicas até se obter uma concordância nos valores de desvio-padrão relativo (Coelho, 2009). A análise de quantificação de mercúrio total foi efetuada na Universidade de Aveiro.

#### Equação 2.2

$$\% \text{ Recuperação MRC} = \frac{\text{valor obtido experimentalmente}}{\text{valor certificado do MRC}} \times 100$$

### 2.5.Determinação de mercúrio orgânico

A quantificação de mercúrio orgânico (Hg orgânico) foi realizada em 9 amostras de músculo e 9 amostras de fígado de tartarugas mortas selecionadas aleatoriamente. Esta análise apenas foi efetuada em 9 exemplares de *Caretta caretta* devido às quantidades reduzidas de amostra disponível e à disponibilidade de utilização do equipamento.

Para a determinação do Hg orgânico foi necessária a aplicação de um processo de extração constituído por digestões envolvendo uma mistura de brometo de potássio (KBr), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) e recolha do Hg orgânico em tolueno (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>) (Válega et al., 2006). Começou por se pesar 50 a 200 mg da amostra num tubo de centrífuga de 50 ml de propileno onde foram adicionados 5 ml de KBr (18%) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5%) e 1 ml CuSO<sub>4</sub> (1 mol l<sup>-1</sup>). Os tubos foram mantidos à temperatura ambiente por um período de 15 minutos, tendo sido depois adicionados 5 ml de C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>. De seguida os tubos foram agitados vigorosamente durante 15 minutos e centrifugados a 4000 rpm (rotações por minuto) durante 15 minutos para se separar a fração orgânica da fração inorgânica. Foram recolhidos 3 ml da fração orgânica para um frasco de vidro que foi armazenado. Repetiu-se o processo de extração com a adição de 5 ml de C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>, agitação vigorosa durante 15 minutos e centrifugação a 4000 rpm durante 15 minutos, tendo-se recolhido mais 5 ml da fração orgânica para o frasco de vidro. De seguida, o Hg orgânico retido no C<sub>7</sub>H<sub>8</sub> foi novamente extraído para uma solução aquosa de tiosulfato (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0,002 mol l<sup>-1</sup>, ou seja, adicionaram-se 5 ml de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à fração orgânica contida no frasco de vidro e agitou-se durante 5 minutos.

A quantificação do Hg orgânico foi feita na fração aquosa do Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> no analisador avançado de mercúrio (espectrometria de absorção atómica após decomposição térmica das amostras, processo idêntico à quantificação de Hg total). O material de referência utilizado também foi o TORT-2 e a quantidade de amostra utilizada foi 200 µl. Similarmente à metodologia adotada para a quantificação de mercúrio total, foram sempre realizados brancos entre amostras e o critério de aceitação dos resultados foi um valor de desvio-padrão relativo inferior a 10%. Por sua vez, o funcionamento do equipamento também foi aferido diariamente duas vezes e a correção dos resultados foi efetuada com base nos valores de recuperação do MRC segundo a Equação 2.2. A análise de quantificação de mercúrio orgânico foi efetuada na Universidade de Aveiro.

Para o cálculo das percentagens de Hg orgânico e Hg inorgânico assumiu-se que o Hg inorgânico correspondia à diferença entre o Hg total e o Hg orgânico.

## 2.6. Determinação de outros metais pesados

A quantificação de crómio (Cr), manganês (Mg), ferro (Fe), cobalto (Co), níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), arsénio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) foi efetuada em todas as amostras de músculo e fígado das tartarugas mortas. A escolha das amostras a analisar deveu-se à quantidade de amostra disponível para análise.

Os valores de concentração dos metais pesados em solução aquosa foram determinados por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) num Thermo ICP-MS XSeries equipado com um nebulizador Burgener. Os limites de deteção foram: 0,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  Cr, 0,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  Mg, 10  $\mu\text{g g}^{-1}$  Fe, 0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  Co, 0,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  Ni, 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  Cu, 2  $\mu\text{g g}^{-1}$  Zn, 2  $\mu\text{g g}^{-1}$  As, 0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  Cd e 0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  Pb. Esta análise foi realizada pelo Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro, que analisa as amostras previamente digeridas para uma série de metais. Após a análise e com base nos valores de recuperação do MRC são selecionados os metais que apresentam percentagens de recuperação do material de referência dentro do intervalo de incerteza indicado para o valor certificado. Neste caso, e como foi utilizado novamente TORT-2, cujo valor da concentração certificado é de 0,27  $\text{mg kg}^{-1}$ , o intervalo de aceitação dos resultados foi entre 0,21 e 0,33  $\text{mg kg}^{-1}$ .

O procedimento prévio à análise consiste num sistema de digestão das amostras através de um micro-ondas *CEM Mars5 microwave system*. Inicialmente pesaram-se 200 mg de amostra biológica com recurso a uma microbalança de alta precisão e adicionaram-se 1 ml de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) e 1 ml de peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Após um período de repouso de 15 minutos à temperatura ambiente as amostras foram então sujeitas a ciclos alternados de temperatura no micro-ondas. A duração e temperatura destes ciclos foram de 8 minutos até 130°C, 8 minutos até 170°C, 4 minutos até 185°C, 2 minutos até 185°C, 4 minutos até 195°C e 15 minutos até 0°C. No final, adicionou-se água Milli-Q até perfazer um volume de 25 ml de solução.

## 2.7. Análise de dados

Para averiguar a existência de diferenças nas medidas biométricas recolhidas para os dois grupos de exemplares de tartarugas, tartarugas capturadas vivas e tartarugas mortas no palangre derivante de profundidade, foi efetuado um teste de Mann-Whitney, uma vez que as amostras não seguiam uma distribuição normal. Para comparar a estrutura de tamanhos destes grupos de exemplares foram produzidos os respetivos histogramas. Foram também efetuadas correlações de Spearman ( $r_s$ ) para avaliar a relação entre as diferentes medidas biométricas para o conjunto das tartarugas vivas e mortas.

Para verificar a variabilidade isotópica foi produzido um gráfico bidimensional com os valores médios da  $\delta^{15}\text{N}$  e da  $\delta^{13}\text{C}$  dos grupos de tartarugas e lulas do Pacífico Norte nas amostras de sangue e músculo, respetivamente. Foram efetuadas análises de variância com um fator (one-way ANOVA), para determinar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos das tartarugas ao nível da  $\delta^{15}\text{N}$  e da  $\delta^{13}\text{C}$  e análises de covariância com um fator (one-way ANCOVA) para determinar diferenças estatisticamente significativas entre a condição vivo ou morto e o tamanho corporal na  $\delta^{15}\text{N}$  e na  $\delta^{13}\text{C}$  controlando, respetivamente, o efeito do tamanho corporal e a condição vivo ou morto.

Similarmente à análise estatística efetuada para o nível trófico da tartaruga-comum na região oceânica da Madeira, foi efetuada uma one-way ANOVA para determinar diferenças estatisticamente

significativas entre os grupos das tartarugas relativamente à concentração de Hg total presente nas amostras de sangue, assim como uma one-way ANCOVA para verificar os efeitos da condição vivo ou morto (controlando o efeito do tamanho corporal dos exemplares) nos valores de concentração de Hg total. Foram ainda efetuadas duas análises de regressão linear simples para avaliar a relação entre a  $\delta^{15}\text{N}$  e a  $\delta^{13}\text{C}$  com as concentrações de Hg total de ambos os grupos de tartarugas obtidas no sangue. Posteriormente foi efetuada uma one-way ANCOVA para verificar os efeitos da condição vivo ou morto e da  $\delta^{15}\text{N}$  nos valores de concentração de Hg total em ambos os grupos de tartarugas.

Foi efetuada uma análise de componentes principais (PCA) para investigar a relação entre a concentração de Hg total nos diferentes tecidos analisados para o grupo das tartarugas mortas (sangue, músculo, fígado, gordura e cérebro). A análise foi efetuada sobre a matriz de valores das concentrações dos metais, depois de centrados (isto é, subtraída a média) e reduzidos (isto é, divididos pela variância).

Para comparar a importância relativa do Hg orgânico e inorgânico nos diferentes tecidos (músculo e fígado) das tartarugas mortas, foram calculadas as suas percentagens e consequentemente produzidos gráficos sob a forma de percentagem.

Para comparar as concentrações de Cr, Mg, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd e Pb entre os tecidos analisados (músculo e fígado) das tartarugas mortas foi efetuado um teste de Mann-Whitney, pois as amostras não seguiam uma distribuição normal. A influência do tamanho corporal das tartarugas mortas nas concentrações destes metais no músculo e fígado foi avaliada através da aplicação do coeficiente de correlação de Spearman ( $r_s$ ). Para verificar a relação entre os diferentes metais e entre estes e o tecido analisado foi também efetuada uma PCA, sobre a matriz centrada e reduzida.

Também se efetuou uma comparação entre os valores das concentrações de todos os metais pesados encontrados no fígado e músculo dos exemplares mortos de tartaruga-comum nesta dissertação com os valores publicados em estudos anteriores.

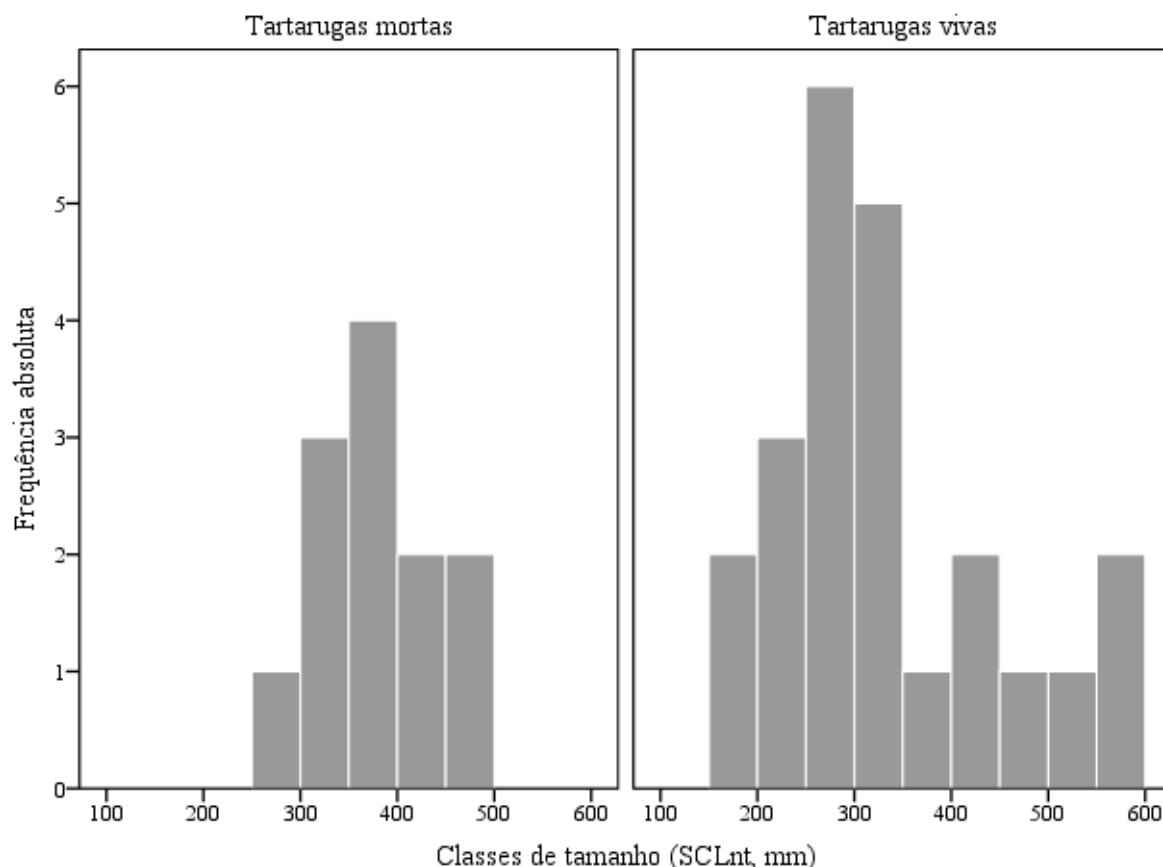
Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Os valores são apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão. As análises estatísticas foram efetuadas no *software* SPSS Statistics versão 24 e foi utilizado um nível de significância de 5%, com exceção das correlações de Spearman onde se utilizou um nível de significância de 1%. As PCAs foram efetuadas no *software* R versão 3.4.2.



### 3. Resultados

#### 3.1. Estrutura de tamanhos de *Caretta caretta* na região oceânica da Madeira

De acordo com o comprimento direito da carapaça (SCLn-t) todos os exemplares analisados neste estudo correspondem a juvenis ou subadultos (Bjorndal et al., 2003; Dellinger, 2003a; Torrent et al., 2004) (Figura 3.1). O tamanho corporal mais frequente (classe modal) correspondeu às classes dos 350–400 mm nas tartarugas mortas e 250–300 mm nas tartarugas vivas. As tartarugas mortas apresentaram uma variação no seu tamanho corporal desde os 264 aos 493 mm com uma média de  $381 \pm 62$  mm, sendo que as tartarugas vivas demonstraram uma variação desde os 195 aos 571 mm com uma média de  $332 \pm 111$  mm (Figura 3.1). Um teste de Mann-Whitney indicou que as diferenças de tamanho corporal entre os dois grupos de exemplares são marginais ( $U = 82,0$ ,  $p = 0,052$ ), notando-se uma tendência para as tartarugas mortas terem um comprimento ligeiramente superior ao das vivas.



**Figura 3.1.** Distribuição de tamanhos (comprimento direito da carapaça, SCLn-t, em milímetros) dos exemplares de *Caretta caretta* capturados vivos ( $n = 23$ ) e dos exemplares mortos ( $n = 12$ ).

As tartarugas mortas apresentaram valores mais elevados da largura direita da carapaça ( $U = 81,5$ ,  $p = 0,036$ ), da largura curva da carapaça ( $U = 79,5$ ,  $p = 0,030$ ), do comprimento da cabeça ( $U = 76,0$ ,  $p = 0,022$ ), da largura da barbatana dianteira direita ( $U = 85,0$ ,  $p = 0,048$ ) e do peso ( $U = 84,0$ ,  $p = 0,044$ ) relativamente às tartarugas capturadas vivas (Tabela 3.1). Para as restantes medidas biométricas não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3.1.** Comprimento direito da carapaça (SCLn-t), comprimento direito mínimo da carapaça (SCLmin), largura direita da carapaça (SCW), comprimento curvo da carapaça (CCLn-t), comprimento curvo mínimo da carapaça (CCLmin), largura curva da carapaça (CCW), comprimento da cabeça (HL), largura da cabeça (HW), comprimento da barbatana dianteira direita (FFL), largura da barbatana dianteira direita (FFW), comprimento da garra da barbatana dianteira direita (CLW) e peso (WT) das tartarugas capturadas vivas e das tartarugas mortas. Os valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão, em milímetros (mm), exceto para o peso, que se apresenta em gramas (g).

	Tartarugas vivas			Tartarugas mortas		
	<i>n</i>	Média $\pm$ $\sigma$	Mín. – máx.	<i>n</i>	Média $\pm$ $\sigma$	Mín. – máx.
SCLn-t	23	332 $\pm$ 111	195 – 571	12	381 $\pm$ 62	264 – 493
SCLmin	23	327 $\pm$ 109	193 – 561	12	375 $\pm$ 60	262 – 486
SCW	24	285 $\pm$ 94	170 – 500	12	332 $\pm$ 53	234 – 434
CCLn-t	23	374 $\pm$ 122	228 – 632	12	421 $\pm$ 63	299 – 532
CCLmin	23	364 $\pm$ 120	223 – 619	12	412 $\pm$ 63	291 – 524
CCW	24	345 $\pm$ 119	207 – 604	12	402 $\pm$ 65	275 – 519
HL	24	96 $\pm$ 26	58 – 151	12	114 $\pm$ 15	82 – 142
HW	24	77 $\pm$ 25	46 – 143	12	89 $\pm$ 13	64 – 114
FFL	24	191 $\pm$ 60	117 – 350	12	220 $\pm$ 31	160 – 274
FFW	24	64 $\pm$ 17	42 – 99	12	73 $\pm$ 10	55 – 89
CLW	24	11 $\pm$ 3	7 – 18	12	13 $\pm$ 2	9 – 16
WT	24	7740 $\pm$ 7858	1224 – 28850	12	9350 $\pm$ 4499	3078 – 18800

As correlações obtidas entre as diferentes medidas biométricas foram todas significativas ( $p < 0,001$ ).

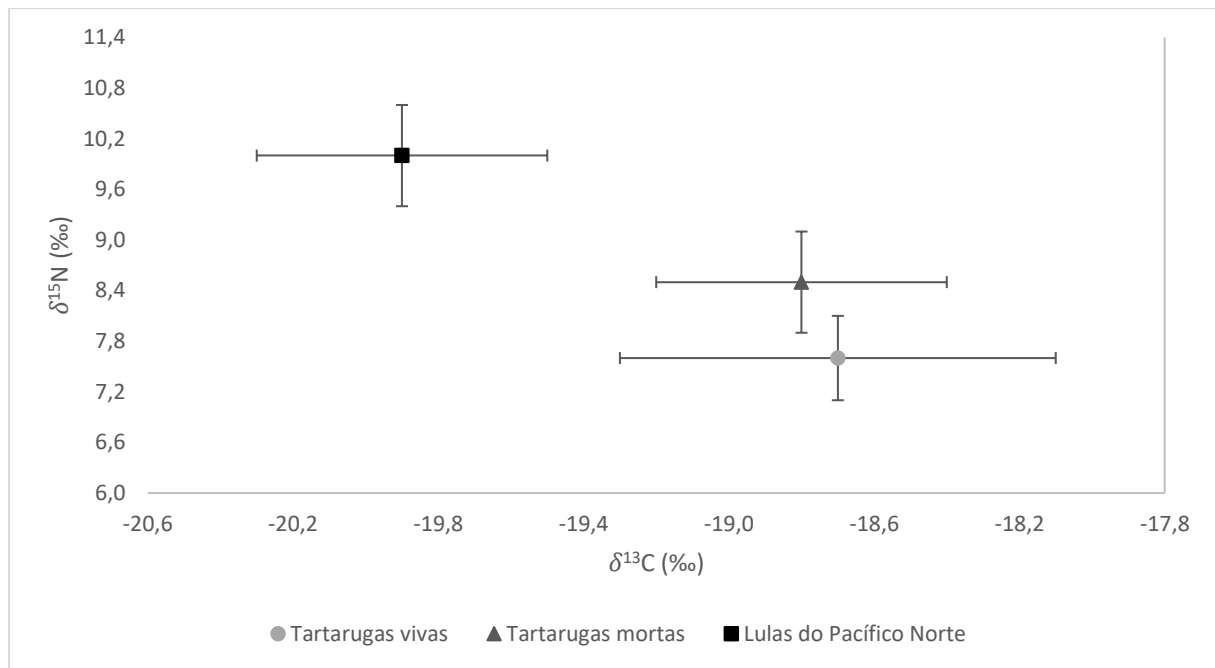
### 3.2. Nível trófico de *Caretta caretta* na região oceânica da Madeira

As assinaturas isotópicas obtidas no sangue evidenciaram uma diferença entre os exemplares mortos e vivos de *Caretta caretta* (Figura 3.2 e **Figura 3.3**). Registou-se um valor médio da  $\delta^{15}\text{N}$  significativamente mais elevado para as tartarugas mortas ( $8,5 \pm 0,6\text{‰}$ ) em comparação com o valor médio obtido para as tartarugas vivas ( $7,6 \pm 0,5\text{‰}$ ) (one-way ANOVA  $F(1,34) = 24,3$ ,  $p < 0,001$ ). Esta observação contrasta com uma semelhança no valor médio da  $\delta^{13}\text{C}$  para as tartarugas vivas ( $-18,7 \pm 0,6\text{‰}$ ) e para as tartarugas mortas ( $-18,8 \pm 0,4\text{‰}$ ) (one-way ANOVA  $F(1,34) = 0,596$ ,  $p = 0,446$ ) (Figura 3.2).

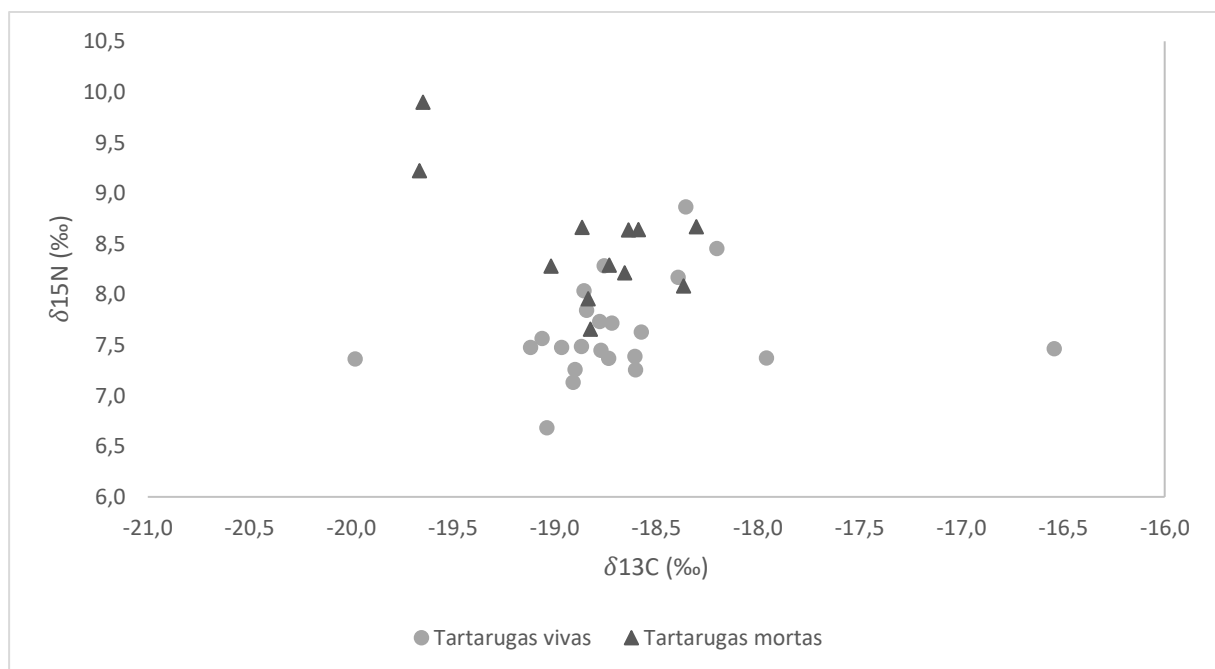
A diferença nos valores da  $\delta^{15}\text{N}$  manteve-se mesmo após o controlo do efeito do tamanho corporal (one-way ANCOVA, efeito da  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $F(1, 33) = 19,2$ ,  $p < 0,001$ ), não se verificando nenhum efeito deste último fator (one-way ANCOVA,  $F(1,33) = 2,25$ ,  $p = 0,144$ ) (Figura 3.4). Não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa nos valores da  $\delta^{13}\text{C}$  após o controlo do efeito do tamanho corporal (one-way ANCOVA,  $F(1,33) = 0,548$ ,  $p = 0,465$ ) e da condição vivo ou morto (one-way ANCOVA,  $F(1,33) = 0,113$ ,  $p = 0,739$ ).

Os valores médios da  $\delta^{15}\text{N}$  e da  $\delta^{13}\text{C}$  para as lulas do Pacífico Norte obtidos foram de  $10,8 \pm 0,8\text{‰}$  e  $-19,9 \pm 0,4\text{‰}$ , respetivamente (Figura 3.2).

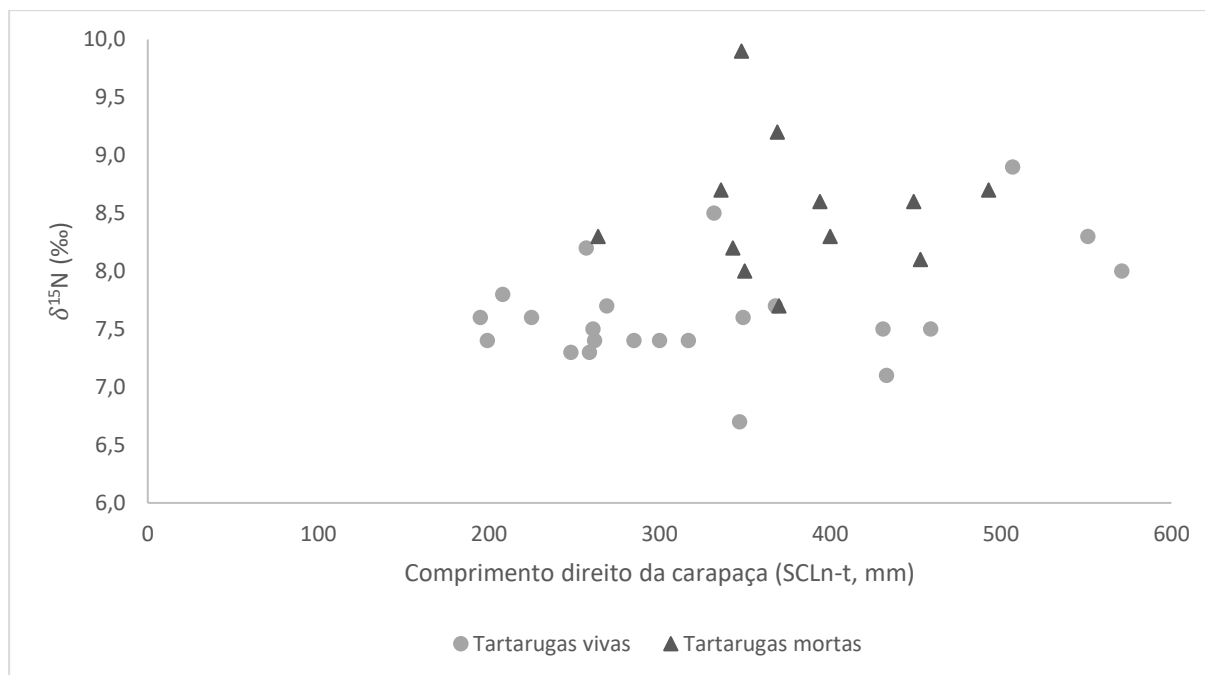




**Figura 3.2.** Assinaturas isotópicas médias de azoto,  $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono,  $\delta^{13}\text{C}$ , de *Caretta caretta* com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) e de *Ommastrephes bartramii* com base nas amostras de músculo recolhidas ( $n = 7$ ). Os valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão.



**Figura 3.3.** Assinaturas isotópicas de azoto,  $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono,  $\delta^{13}\text{C}$ , de *Caretta caretta* com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ).



**Figura 3.4.** Assinaturas isotópicas do azoto,  $\delta^{15}\text{N}$ , das amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) em função do tamanho corporal.

### 3.3. Repartição de contaminantes nos diferentes tecidos

#### 3.3.1. Mercúrio total

Os valores de Hg total obtidos neste estudo estão apresentados no Anexo 5.

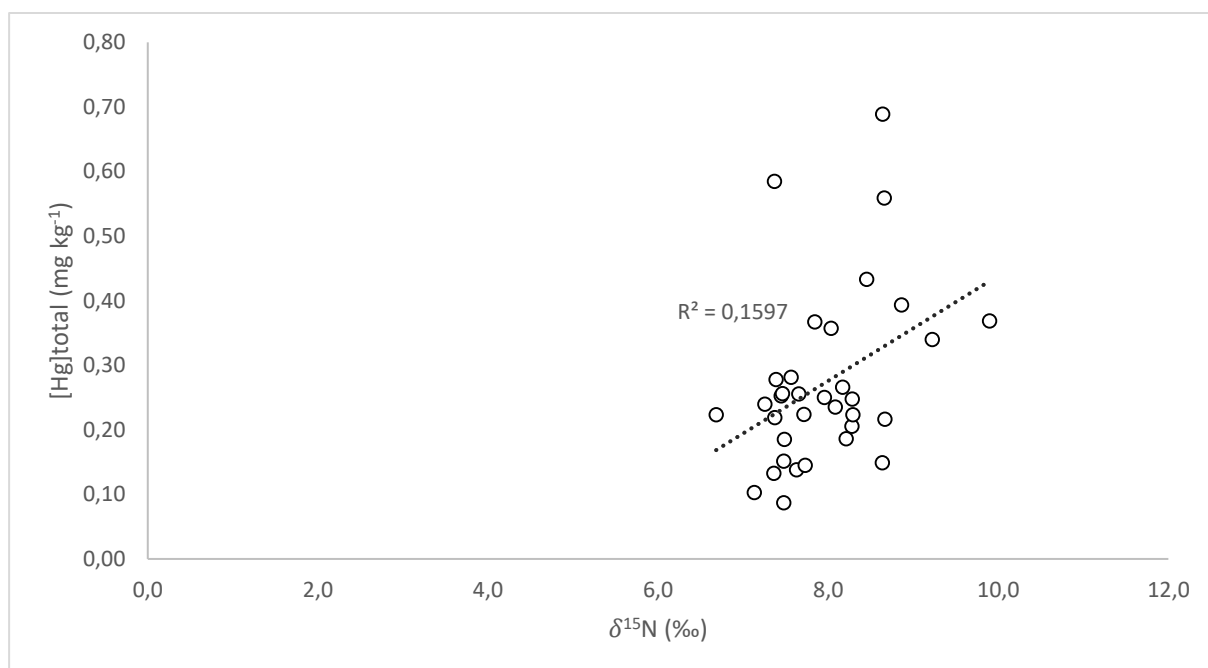
Não se constatou a existência de uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tartarugas vivas e de tartarugas mortas relativamente às concentrações de Hg total no sangue (one-way ANOVA,  $F(1,32) = 1,216$ ,  $p = 0,278$ ). A concentração média de Hg total, em peso seco, obtida no sangue das tartarugas vivas foi de  $0,25 \pm 0,12 \text{ mg kg}^{-1}$  e a de tartarugas mortas foi de  $0,31 \pm 0,16 \text{ mg kg}^{-1}$ . Analogamente à análise efetuada para a  $\delta^{13}\text{C}$ , a análise de covariância com um fator não revelou um efeito significativo da condição vivo ou morto (one-way ANCOVA,  $F(1,31) = 0,819$ ,  $p = 0,373$ ) ou do tamanho corporal (one-way ANCOVA,  $F(1,31) = 0,064$ ,  $p = 0,802$ ) nos valores de concentração média de Hg total no sangue das tartarugas.

Uma análise de regressão linear simples mostrou que a concentração de Hg total está relacionada com a  $\delta^{15}\text{N}$  no conjunto de tartarugas (vivas e mortas) ( $F(1,32) = 6,082$ ,  $p = 0,019$ ,  $R^2 = 0,160$ ). Para a  $\delta^{13}\text{C}$  não existe relação ( $F(1,32) = 0,147$ ,  $p = 0,704$ ,  $R^2 = 0,005$ ) (Figura 3.5). A análise de covariância com um fator revelou apenas um efeito significativo dos valores da  $\delta^{15}\text{N}$  na concentração de Hg total (one-way ANCOVA,  $F(1,32) = 4,818$ ,  $p = 0,036$ ). A condição vivo ou morto não tem qualquer efeito nas concentrações de Hg total presente no sangue das tartarugas vivas e mortas (one-way ANCOVA,  $F(1,32) = 0,242$ ,  $p = 0,627$ ).

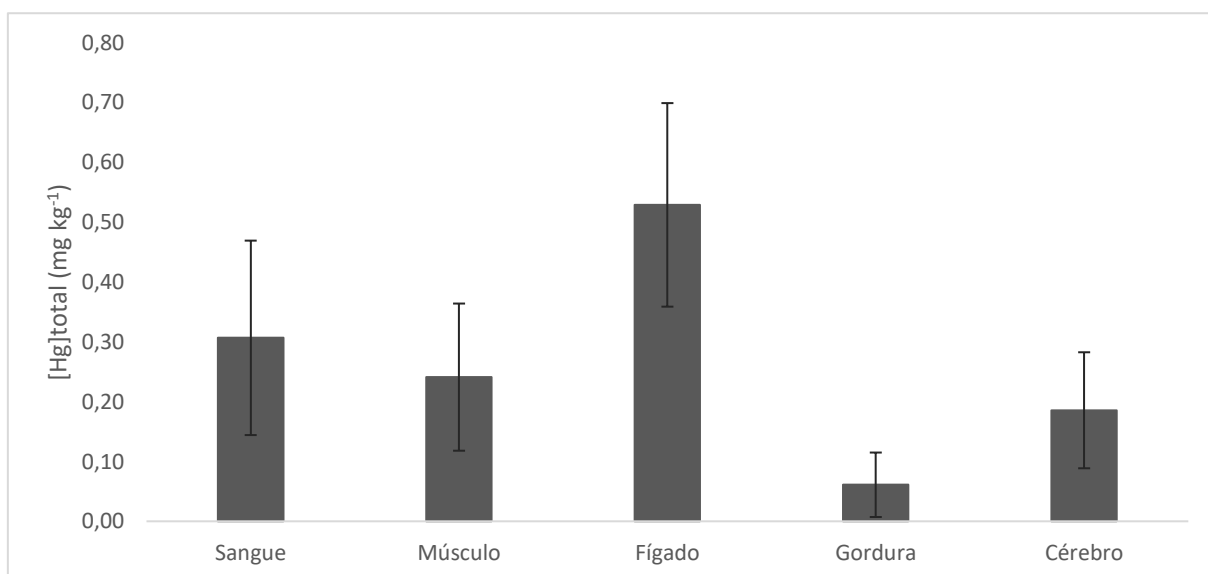
Nas tartarugas marinhas mortas, a gordura foi o tecido que apresentou, em média, menor valor de concentração de Hg total ( $0,06 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ ), sendo o fígado o tecido que apresentou, em média, maior valor de concentração de Hg total ( $0,53 \pm 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$ ). A ordem crescente de concentrações médias de

Hg total observada foi: gordura ( $0,06 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ ) < cérebro ( $0,19 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) < músculo ( $0,24 \pm 0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ ) < sangue ( $0,31 \pm 0,16 \text{ mg kg}^{-1}$ ) < fígado ( $0,53 \pm 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Figura 3.6).

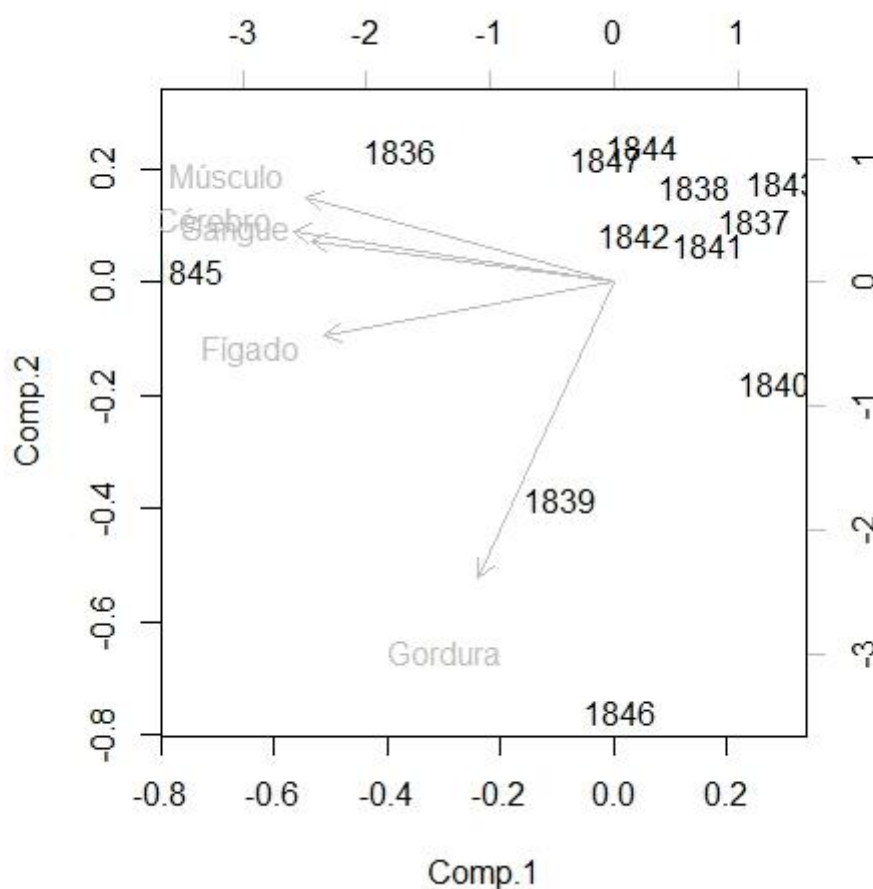
A PCA revelou que existe uma grande relação entre os valores das concentrações de Hg total no sangue e no cérebro das tartarugas mortas. O sangue, o cérebro e o músculo são tecidos que evidenciaram relações fortes comparativamente ao fígado e à gordura. Esta análise revelou ainda que os teores de Hg total encontrados na gordura estão pouco relacionados com valores dos restantes tecidos. A primeira componente da PCA explica 72,7% da variância dos dados enquanto a segunda componente da PCA explica 18,9% (Figura 3.7). Os exemplares amostrados estão representados pelos seus códigos de captura.



**Figura 3.5.** Relação entre a concentração de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em peso seco e a  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) no conjunto das tartarugas vivas ( $n = 22$ ) e tartarugas mortas ( $n = 12$ ) com base nas amostras de sangue recolhidas.



**Figura 3.6.** Concentrações médias de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em peso seco, das amostras de sangue ( $n = 12$ ), músculo ( $n = 12$ ), fígado ( $n = 12$ ), gordura ( $n = 12$ ) e cérebro ( $n = 12$ ) das tartarugas mortas.



**Figura 3.7.** Diagrama da análise de componentes principais das concentrações médias de mercúrio total no sangue, músculo, fígado, gordura e cérebro das tartarugas mortas ( $n = 12$ ).

A comparação entre os valores das concentrações de Hg total no músculo e fígado de *Caretta caretta* neste estudo e outros locais está apresentada na Tabela 3.3.

### 3.3.2. Mercúrio orgânico

No geral, as tartarugas mortas evidenciaram uma tendência para acumular mais Hg orgânico no fígado ( $0,27 \pm 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$ ) em comparação com o músculo ( $0,20 \pm 0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Em média, as percentagens de Hg orgânico obtidas foram de  $78,7 \pm 8,54\%$  no músculo e  $50,4 \pm 16,17\%$  no fígado e as de Hg inorgânico foram de  $21,30\% \pm 8,54$  no músculo e  $49,56\% \pm 16,17$  no fígado (Anexo 6).

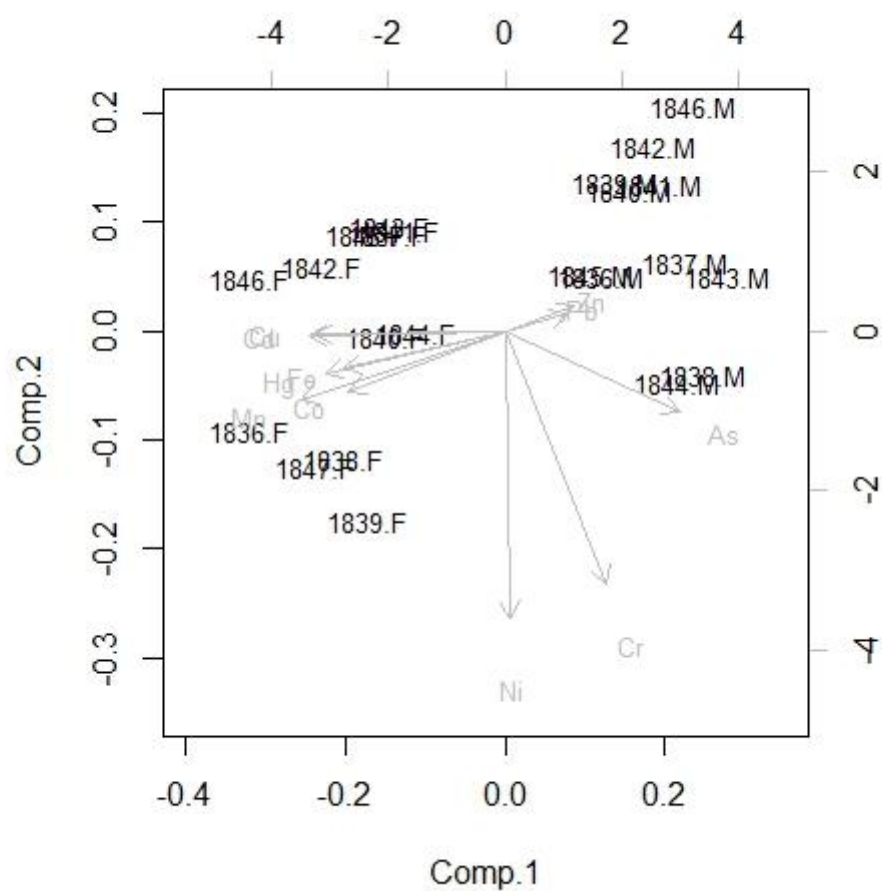
### 3.3.3. Crômio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsênio, cádmio e chumbo

As concentrações de Cr, Mg, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd e Pb detetadas nos diferentes tecidos analisados estão apresentadas na Tabela 3.2. No geral, poucos metais revelaram organotropismo (termo referente à atração que determinadas substâncias químicas apresentam para um órgão ou tecido específico), não se tendo identificado um padrão geral de acumulação de concentrações elevadas. Foi observada uma tendência muito forte para a acumulação específica de Fe no fígado assim como uma tendência menos forte, mas ainda assim relevante, de acumulação de Fe no músculo, Zn no músculo e fígado e As no músculo (Tabela 3.2). Não se detetou uma grande variabilidade de concentrações médias entre exemplares, com algumas exceções: Cr, Fe e Co no músculo e Cu e Fe no fígado (Anexo 7 e Anexo 8). Verificou-se a existência de uma diferença estatisticamente significativa entre o músculo e o fígado para os metais analisados com exceção do Ni ( $U = 62,0$ ,  $p = 0,833$ ), Zn ( $U = 49,0$ ,  $p = 0,198$ ) e Pb ( $U = 71,0$ ,  $p = 0,977$ ). As concentrações de Cr ( $U = 0$ ,  $p < 0,001$ ) e As ( $U = 6,0$ ,  $p < 0,001$ ) foram mais elevadas no músculo em oposição às concentrações de Mg ( $U = 0$ ,  $p < 0,001$ ), Fe ( $U = 2,0$ ,  $p < 0,001$ ), Co ( $U = 5,0$ ,  $p < 0,001$ ), Cu ( $U = 0,0$ ,  $p < 0,001$ ) e Cd ( $U = 0$ ,  $p < 0,001$ ) que foram mais elevadas no fígado (Tabela 3.2). Não foram encontrados resultados estatisticamente significativos após a aplicação do teste do coeficiente de correlação de Spearman quer no músculo quer no fígado entre a concentração dos metais pesados analisados e o tamanho corporal dos exemplares ( $p > 0,05$ ).

Para efeitos de comparação entre todos os metais pesados analisados nesta dissertação optou-se por incluir o valor médio de Hg total registado no músculo e no fígado das tartarugas mortas na PCA neste subcapítulo. Observou-se a existência de um padrão inverso de correspondência entre os tecidos e as associações de metais. A presença de Mg, Fe, Co, Cu, Cd e Hg total surgiu interligada ao fígado enquanto a presença de Zn, Pb e As surgiu interligada ao tecido muscular. O Ni e o Cr surgiram como dois metais isolados que não apresentam diferenças marcadas na repartição pelos dois tecidos. A primeira componente da PCA é responsável por 45,2% da variância dos dados enquanto a segunda componente da PCA é responsável por 16,1% (Figura 3.8).

**Tabela 3.2.** Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco) no músculo e fígado dos exemplares mortos de *Caretta caretta* ( $n = 12$ ). Os valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão e valores mínimo e máximo.

Metal pesado	Músculo			Fígado		
	<i>n</i>	Média $\pm \sigma$	Mín. – máx.	<i>n</i>	Média $\pm \sigma$	Mín. – máx.
Cr	12	8,65 $\pm$ 12,37	3,03 – 47,20	12	0,78 $\pm$ 0,38	0,37 – 1,86
Mn	12	0,79 $\pm$ 0,42	0,35 – 1,93	12	4,01 $\pm$ 1,24	2,42 – 7,21
Fe	12	146,31 $\pm$ 139,35	58,14 – 578,49	12	1055,67 $\pm$ 532,47	378,01 – 2139,26
Co	12	0,08 $\pm$ 0,04	0,02 – 0,15	12	0,29 $\pm$ 0,15	0,12 – 0,68
Ni	12	0,17 $\pm$ 0,13	0,07 – 0,52	12	0,16 $\pm$ 0,08	0,07 – 0,31
Cu	12	2,65 $\pm$ 1,09	1,30 – 5,01	12	11,93 $\pm$ 5,53	7,65 – 28,24
Zn	12	74,91 $\pm$ 13,85	62,61 – 113,62	12	68,26 $\pm$ 8,25	58,86 – 81,26
As	12	56,45 $\pm$ 24,94	20,89 – 88,71	12	17,83 $\pm$ 8,55	6,88 – 34,21
Cd	12	0,45 $\pm$ 0,21	0,21 – 0,88	12	12,43 $\pm$ 4,92	4,80 – 21,09
Pb	12	1,34 $\pm$ 3,93	0,02 – 13,82	12	0,33 $\pm$ 0,37	0,08 – 1,16



**Figura 3.8.** Diagrama da análise de componentes principais das concentrações médias de crômio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio no músculo (códigos terminados em M) e fígado (códigos terminados em F) das tartarugas mortas ( $n = 12$ ).

**Tabela 3.3.** Valores das concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco) em tecidos de tartaruga-comum de diferentes localizações. Os valores reportados em peso fresco foram convertidos para peso seco com o valor médio de água reportado por Maffucci et al. (2005). ALD = abaixo do limite de detecção. Referências: **a** presente estudo; **b** (Jerez et al., 2010); **c** (Andreani et al., 2008); **d** (Storelli et al., 2005); **e** (Maffucci et al., 2005); **f** (Franzellitti et al., 2004); **g** (Sakai et al., 2000); **h** (Godley et al., 1999); **i** (Caurant et al., 1999); **j** (Storelli et al., 1998a); **k** (Storelli et al., 1998b); **l** (Sakai et al., 1995); **m** (Gordon et al., 1998). O tamanho corporal corresponde aos valores de SCLn-t em mm.

Localização	Tamanho	Cu		Zn		As		Cd		Pb		Hg		
	Média ± σ	Média ± σ	Mín. – máx.	Média ± σ	Mín. – máx.	Média ± σ	Mín. – máx.	Média ± σ	Mín. – máx.	Média ± σ	Mín. – máx.	Média ± σ	Mín. – máx.	
<b>Músculo</b>														
Madeira <sup>a</sup>	381 ± 62	2,65 ± 1,09	1,30 – 5,01	74,91 ± 13,85	62,61 – 113,62	56,45 ± 24,94	20,89 – 88,71	0,45 ± 0,21	0,21 – 0,88	1,34 ± 3,93	0,02 – 13,82	0,24 ± 0,12	0,10 – 0,56	
Este de Espanha <sup>b</sup>	451 ± 98	–	–	113,29 ± 267,33	25,42 – 1002,4	40,95 ± 37,32	6,36 – 133,48	0,08 ± 0,06	0,02 – 0,24	0,2 ± 0,25	0,01 – 0,62	0,14 ± 0,22	0,01 – 0,82	
Itália <sup>c</sup>	–	–	–	105 ± 14	–	–	–	0,81 ± 0,04	–	ALD	–	–	–	
Itália <sup>d</sup>	425 ± 154	–	–	132,86 ± 23,09	94,29 – 167,14	–	–	0,33 ± 0,14	ALD – 0,62	0,19 ± 0,14	ALD – 0,43	0,86 ± 1	0,14 – 3,14	
Oeste de Itália <sup>e</sup>	–	2,7 ± 1,4	0,8 – 7,0	107 ± 26,1	76,4 – 177	–	–	0,2 ± 0,2	0,06 – 0,78	–	–	0,4 ± 0,3	0,14 – 1,92	
Este de Itália <sup>f</sup>	–	–	–	147,14 ± 38,09	–	–	–	1,71 ± 0,52	–	–	–	–	–	
Japão <sup>g</sup>	830 ± 60 ♀	3,87 ± 1,31	–	119,0 ± 16,61	–	–	–	0,31 ± 0,13	–	–	–	–	–	
Chipre <sup>h</sup>	–	–	–	–	–	–	–	0,57	0,3 – 1,43	2,46	ALD – 5,53	0,48	ALD – 1,78	
Oeste de França <sup>i</sup>	294 ± 153	3,47 ± 2,14	1,62 – 10,61	93,3 ± 27,1	58,1 – 172,8	–	–	0,38 ± 0,23	0,02 – 0,87	–	–	–	–	
Este de Itália <sup>j</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1 ± 0,62	0,33 – 2,05	
Este de Itália <sup>k</sup>	–	–	–	–	–	68,94 ± 45,8	11,21 – 139,6	0,55 ± 0,63	0,09 – 2,21	0,54 ± 0,17	ALD – 0,74	0,69 ± 0,46	0,17 – 1,81	
Japão <sup>l</sup>	831 ± 57	3,95 ± 1,23	2,52 – 6,02	115,2 ± 18,1	92,9 – 147,6	–	–	0,29 ± 0,12	0,19 – 0,56	–	–	0,51 ± 0,23	0,26 – 0,90	
<b>Fígado</b>														
Madeira <sup>a</sup>	381 ± 62	11,93 ± 5,53	7,65 – 28,24	68,26 ± 8,25	58,86 – 81,26	17,83 ± 8,55	6,88 – 34,21	12,43 ± 4,92	4,80 – 21,09	0,33 ± 0,37	0,08 – 1,16	0,53 ± 0,17	0,27 – 0,84	
Este de Espanha <sup>b</sup>	451 ± 98	–	–	30,23 ± 12,24	17,03 – 51,96	12,73 ± 13,03	3,5 – 43,43	0,81 ± 0,48	0,05 – 1,88	0,2 ± 0,11	0,08 – 0,51	0,39 ± 0,41	0,08 – 1,57	
Itália <sup>c</sup>	–	–	–	103 ± 14	–	–	–	2,4 ± 0,4	–	0,1 ± 0,08	–	–	–	
Itália <sup>d</sup>	425 ± 154	–	–	91,56 ± 24,09	58,75 – 145,31	–	–	10,5 ± 6,06	3,44 – 20,47	0,5 ± 0,16	ALD – 0,91	1,34 ± 0,91	0,41 – 3,94	
Oeste de Itália <sup>e</sup>	611 ± 117	37,3 ± 8,7	9,4 – 41,8	66 ± 42,7	23,8 – 178	–	–	19,3 ± 34,2	1,6 – 114	–	–	1,1 ± 1,7	0,42 – 8,76	
Este de Itália <sup>f</sup>	–	–	–	87,19 ± 20,31	–	–	–	8,87 ± 2,25	–	–	–	–	–	
Japão <sup>g</sup>	830 ± 60 ♀	55,3 ± 27,9	–	87,8 ± 14,6	–	–	–	30,4 ± 10,5	–	–	–	–	–	
Chipre <sup>h</sup>	–	–	–	–	–	–	–	8,64	5,14–12,97	ALD	ALD – 4,9	2,41	0,82 – 7,5	
Oeste de França <sup>i</sup>	294 ± 153	25,8 ± 20,6	7,2 – 65,3	78,1 ± 29,7	45,3 – 120,0	–	–	8,1 ± 12,9	0,9 – 36,9	–	–	1,68 ± 1,04	0,35 – 3,72	
Este de Itália <sup>j</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2,19 ± 1	1,16 – 3,44	
Este de Itália <sup>k</sup>	–	–	–	–	–	21,67 ± 17,22	0,83 – 56,55	7,6 ± 6,05	3,06 – 20,23	1,23 ± 1,01	ALD – 3,38	1,68 ± 1,04	0,35 – 3,72	
Austrália <sup>m</sup>	–	–	–	71,2 ± 9,4	42,8 – 102	–	–	51,2 ± 10,3	22,8 – 110,0	–	–	0,05 ± 0,02	0,0 – 0,10	
Japão <sup>l</sup>	831 ± 57	55,9 ± 25,5	20,2 – 105,9	87,2 ± 13,6	72,5 – 109,7	–	–	29,0 ± 10,3	17,7 – 45,6	–	–	4,44 ± 9,15	0,79 – 25,5	





## 4. Discussão

### *Tamanhos de *Caretta caretta* mortas e vivas na região oceânica do arquipélago da Madeira*

As tartarugas mortas em palangre derivante de profundidade são ligeiramente maiores que as tartarugas capturadas vivas. Como referido na metodologia e resultados adotou-se o SCLn-t como indicador do tamanho corporal. Segundo Bolten (1999) as medidas biométricas curvas apresentam uma tendência para serem menos precisas e menos exatas devido às irregularidades e à presença natural de epibiontes nas carapaças das tartarugas marinhas. Apesar de ser sugerido, pelo mesmo autor, a utilização do SCLmin como medida direta do comprimento da carapaça, uma vez que a ponta posterior das placas supra caudais surge frequentemente partida no juvenis e desgastada nos adultos, ambas as medições biométricas foram efetuadas e para efeitos de comparação com outros estudos decidiu-se utilizar o SCLn-t. De acordo com os resultados obtidos, o SCLn-t e o SCLmin encontram-se bastante correlacionados, pelo que ambas as medidas biométricas representam de modo semelhante o tamanho corporal. Embora apenas se tenha verificado uma diferença marginal no SCLn-t dos dois grupos de exemplares (tartarugas vivas e tartarugas mortas), registaram-se, em média, valores mais elevados do peso, largura direita da carapaça, largura curva da carapaça, comprimento da cabeça e largura da barbatana dianteira direita para o grupo das tartarugas mortas.

Não se espera que esta diferença nos tamanhos corporais possa ter resultado dos procedimentos metodológicos adotados. Durante a realização das necropsias foram preenchidos relatórios de necropsias onde constava o código do estado de decomposição das tartarugas marinhas mortas (Anexo 9). Todos os exemplares mortos encontravam-se em bom estado de decomposição (nível 1 segundo o código do estado de decomposição), isto é, tartarugas congeladas após a morte com ausência de alterações evidentes da cor, acumulação de sangue na cavidade abdominal, produção de gás, carapaça inchada, musculatura separada dos ossos e partes do corpo. Portanto, não se supõe que o estado de decomposição possa ter afetado as morfometrias apresentadas neste estudo. Por último, todas as medições biométricas foram efetuadas segundo padrões definidos, pelo que também não se supõe diferenças derivantes de erros nos procedimentos biométricos.

### *Estratégia alimentar adotada pelas tartarugas mortas em palangre na região oceânica do arquipélago da Madeira*

Através da análise de isótopos estáveis verificou-se que os exemplares de tartaruga-comum que morrem nos aparelhos de palangre apresentam um valor médio da  $\delta^{15}\text{N}$  ca. 0,9‰ mais elevado do que as tartarugas vivas. Uma vez que a composição de isótopos estáveis nos tecidos de um consumidor reflete a composição de isótopos estáveis das suas presas (Arthur et al., 2008; Hall et al., 2015) e dada a ocorrência de enriquecimento trófico de cerca de 3 a 4‰ da  $\delta^{15}\text{N}$  nos tecidos de um consumidor em relação à sua dieta (DeNiro e Epstein, 1981; Minagawa e Wada, 1984; Peterson e Fry, 1987; Hatase et al., 2002; Post, 2002), pode-se deduzir que as tartarugas que morrem nos aparelhos de palangre tenham uma dieta composta por presas que ocupam uma posição trófica ligeiramente mais elevada do que aquela ocupada pelas presas das tartarugas que não morrem associadas aos aparelhos de palangre. Esta observação não implica necessariamente que as presas destes dois grupos sejam distintas, mas sugere que a prevalência de presas com níveis tróficos mais elevados será superior nas tartarugas que foram capturadas no palangre. Verificou-se ainda que esta diferença nos valores da  $\delta^{15}\text{N}$  não está relacionada com o tamanho dos exemplares analisados, o que poderia indicar simplesmente que os animais maiores

consumiriam também presas maiores, isto é, exemplares maiores estariam a alimentar-se num nível trófico superior. O resultado isotópico obtido para o isco utilizado no palangre derivante de profundidade (as lulas do Pacífico Norte) carece claramente de mais investigação, mas poderá acontecer que este item alimentar justifique a posição trófica mais elevada dos juvenis de *Caretta caretta* que morrem nos palangres. Assim as questões que se podem colocar são: Será que as tartarugas capturadas em palangre se especializam na captura do isco através de aprendizagem? Será que as tartarugas capturadas em palangre se especializam em cefalópodes e por isso morrem nos palangres?

No presente estudo supõe-se que o grupo de exemplares mortos possa ter adotado uma estratégia de captura de alimento oportunista associada à ingestão do isco e descargas intencionais das embarcações destinadas à pesca do peixe-espada-preto. As tartarugas marinhas são geralmente incapazes de capturar peixe vivo (Wallace et al., 2009), pelo que a ingestão do isco possibilitaria a aquisição de uma dieta naturalmente inacessível. Segundo esta hipótese, a discrepância nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  entre os grupos de exemplares mortos e de exemplares vivos poderia ser justificada pela ingestão, por parte das tartarugas que se alimentam do isco, de um item alimentar específico (as lulas do Pacífico Norte) com valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mais elevados do que aqueles que constituem as presas das tartarugas que vagueiam livremente. Assim, postula-se que o grupo de tartarugas mortas nos aparelhos de palangre na região oceânica do arquipélago da Madeira seja um segmento populacional que apresenta especialização trófica.

Também se supõe que alguns animais adquiram uma habituação à fonte alimentar proveniente das artes de pesca e, consequentemente, aumentem o seu risco de mortalidade. Algumas populações de animais apresentam uma dieta generalista, nas quais alguns indivíduos da população se podem especializar num determinado tipo de habitat ou recurso(s) alimentar(es). Esta especialização pode conferir uma sobrevivência diferencial e ter consequências ao nível da reprodução (Hall et al., 2015). Já foi demonstrada a existência de especialização trófica numa população generalista de adultos de tartaruga-comum, que utilizaram apenas uma fração limitada dos recursos disponíveis em toda a bacia oceânica da área de estudo (Vander Zanden et al., 2010). Não obstante à sua ecologia trófica generalista, foi registada uma associação entre as pescas e a tartaruga-comum, na qual os exemplares desta espécie suplementam a sua dieta com os peixes resultantes das descargas e das capturas nos aparelhos de pesca (Wallace et al., 2009). Seney e Musick (2007), com base na análise dos conteúdos estomacais, documentaram uma alteração temporal a longo prazo na dieta dos exemplares de tartaruga-comum na Baía de Chesapeake, nos Estados Unidos da América, coincidente com as espécies-alvo da indústria pesqueira.

Ainda através da análise de isótopos estáveis verificou-se que não existem diferenças entre os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$ , o que reforça a hipótese proposta neste estudo de adoção de uma estratégia alimentar especializada e oportunista associada à ingestão do isco utilizado pela frota pesqueira do Funchal. Dado que os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  nos ecossistemas marinhos permitem determinar o local de alimentação dos consumidores (Post, 2002; Hall et al., 2015), valores semelhantes de  $\delta^{13}\text{C}$  sugerem que ambos os grupos se alimentam na mesma área geográfica. A mesma área de alimentação geográfica pressupõe o mesmo conjunto de presas disponíveis para ambos os grupos de exemplares, o que não justificaria a diferença obtida nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Um aspeto fundamental nos estudos ecológicos que envolvem a análise de isótopos estáveis é o *turnover* isotópico, que consiste no tempo que um determinado tecido de um consumidor leva para refletir a composição isotópica das suas presas (Arthur et al., 2008; Hall et al., 2015). O *turnover* isotópico varia consoante a espécie e o tecido, sendo que tecidos pouco ativos do ponto de vista metabólico têm *turnovers* isotópicos mais lentos (Reich et al., 2008; Dodge et al., 2011; Hall et al., 2015). Assim,

diferentes tecidos podem fornecer informações sobre a dieta integrada em diferentes escalas temporais. Nos animais ectotérmicos, como as tartarugas marinhas, o fígado e o sangue são tecidos que refletem os recursos alimentares consumidos recentemente uma vez que se tratam de tecidos com taxas metabólicas elevadas que apresentam taxas de *turnover* rápidas. Consequentemente, por exemplo, o tecido ósseo é um tecido que reflete a dieta consumida numa larga escala temporal dado que se trata de um tecido caracterizado por uma taxa metabólica baixa que apresenta uma taxa de *turnover* lenta (Bearhop et al., 2004; Jones e Seminoff, 2013). Desta forma, foi selecionado o sangue para a análise da  $\delta^{15}\text{N}$  e da  $\delta^{13}\text{C}$  simultaneamente para os dois grupos de tartarugas por duas razões. Primeiro porque se trata de um tecido cujo método de colheita é pouco invasivo permitindo a libertação dos animais após a sua colheita sem lesões ou danos adicionais. Segundo, porque a análise de um tecido com uma taxa de *turnover* rápida aumenta a probabilidade dos valores isotópicos obtidos representarem, de facto, os valores isotópicos da dieta dos exemplares na área de estudo.

Alguns estudos reportam que as tartarugas marinhas apresentam fidelidade a determinados locais e que, após a ocorrência de migrações sazonais ou do deslocamento de locais específicos, estes animais apresentam a capacidade de retornar a esses locais específicos (Mendonça e Ehrhart, 1982; Lutcavage e Musick, 1985; Henwood, 1987; Avens et al., 2003). Os padrões de movimento observados através da utilização de telemetria por satélite dos juvenis de tartaruga-comum nas águas dos Açores mostram que estes permanecem na região oceânica envolvente do arquipélago do Açores (Bolten, 2003). Também os dados de recapturas de juvenis desta espécie marcados nas águas dos Açores sugerem que estes passam a sua fase pelágica nesta região (Bolten, 2003). Contudo, os padrões de movimento para os juvenis que habitam a região oceânica do arquipélago da Madeira parece ser distinto (Dellinger & Freitas, 2000; McCarthy et al., 2010). Segundo o estudo de Dellinger e Freitas (2000), os juvenis de tartaruga-comum capturados e marcados nas águas da Madeira entre 1998 e 1999 percorreram distâncias consideráveis, apesar da maioria ter permanecido a maior parte do tempo dentro das 200 milhas marítimas que constituem a Zona Económica Exclusiva (ZEE) de Portugal da Madeira e dos Açores.

Tendo em conta a estimativa do tempo de permanência dos juvenis de *Caretta caretta* na ZEE da Madeira de  $51 \pm 33$  dias reportada por Dellinger (2000) e a rápida taxa de *turnover* do tecido analisado para os isótopos estáveis, os resultados obtidos através da análise de isótopos estáveis parecem corresponder ao período que os juvenis de tartaruga-comum habitam a região oceânica do arquipélago da Madeira. De acordo com o meu conhecimento, os dados existentes para a taxa de *turnover* reportam-se ao plasma, sendo que este tecido apresenta uma taxa de *turnover* de 2 a 5 semanas para os juvenis de tartarugas marinhas (Hall et al., 2015).

Devido à inexistência de estudos com isótopos estáveis na região oceânica da Madeira, de acordo com o meu conhecimento, uma melhor caracterização da posição trófica da tartaruga-comum na área de estudo apenas é possível através da comparação com dados referentes ao atum-patudo (*Thunnus obesus* Lowe, 1839) (*dados não publicados*). Os valores médios da  $\delta^{15}\text{N}$  e da  $\delta^{13}\text{C}$  no sangue obtidos para uma amostra de 20 exemplares de atum-patudo capturados entre Abril e Julho de 2016 na região oceânica do arquipélago da Madeira foram de  $11,0 \pm 0,4\text{‰}$  (vs.  $8,1 \pm 0,6\text{‰}$  no total das tartarugas amostradas) e  $-18,1 \pm 0,4\text{‰}$  (vs.  $-18,8 \pm 0,4\text{‰}$  nas tartarugas mortas), respetivamente (Anexo 10). Sendo o atum-patudo um predador de topo (Brill et al., 2005) é de esperar que este apresente um valor médio da  $\delta^{15}\text{N}$  superior, uma vez que se alimenta de presas num nível trófico mais elevado comparativamente às presas das tartarugas marinhas. Relativamente ao valor médio da  $\delta^{13}\text{C}$ , os valores registados para os atuns e para as tartarugas são semelhantes, pelo que as áreas de alimentação destas duas espécies não são muito distantes entre si.

Em termos de metodologia, não se espera que os processos de congelamento e descongelamento possam ter influenciado os resultados relativos aos isótopos estáveis no grupo das tartarugas mortas, uma vez que não influenciam as composição das comunidades bacterianas presentes nas carcaças apesar de provocarem uma perda de água mais rápida e alterarem ligeiramente a sequência de alterações associada à decomposição (Payo-Payo et al., 2013). A maioria dos estudos relacionados com a análise de isótopos estáveis sugere que as amostras devem ser congeladas antes de serem processadas (Burgess e Bennett, 2017). Kaehler e Pakhomov (2001) recomendam que as amostras sejam inicialmente congeladas e depois se retire o conteúdo hídrico através de processos de liofilização ou secagem na estufa. A adoção deste método não provoca uma alteração significativa do sinal isotópico em comparação com métodos de preservação associados à utilização de formalina e etanol (Kaehler e Pakhomov, 2001). A utilização de heparina de sódio, anticoagulante sanguíneo, altera ligeiramente os valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , apesar de vários autores afirmarem que esta alteração não é significativa (Lemons et al., 2012; Carpentier et al., 2015). Ainda assim, e por esta razão, decidiu-se não adicionar heparina de sódio às amostras de sangue destinadas à análise de isótopos estáveis.

#### *Níveis de contaminação na região oceânica da Madeira*

Não se registaram, no geral, valores elevados de concentrações médias dos diferentes metais pesados analisados neste estudo. Têm sido feitos vários estudos sobre a acumulação de metais pesados nas tartarugas marinhas de várias partes do mundo. Contudo, ainda não estão descritas as concentrações de metais pesados em diferentes tecidos dos juvenis de *Caretta caretta* no Atlântico Norte subtropical. Neste tipo de estudos, os metais pesados mais frequentemente analisados são o Hg, Cd e Pb e os tecidos o músculo, fígado e rins (Storelli e Marcotrigiano, 2003).

#### *Mercúrio total*

Comparativamente aos valores médios de Hg total reportados em outros locais, a Madeira tende a ser um dos locais com a mais baixa concentração de Hg total no sangue dos exemplares de *Caretta caretta*. Observou-se uma variação de valores das concentrações conforme os tecidos e os diferentes locais, contudo a concentração média de Hg total presente no músculo dos exemplares analisados neste estudo é a mais baixa até agora reportada, com exceção do este de Espanha. Por sua vez, verificou-se que, com exceção do este de Espanha e Austrália, a Madeira também é o local que apresenta um valor médio de Hg total no fígado mais baixo (Tabela 3.3). O Hg é um metal que se acumula com a idade devido ao seu longo período de meia-vida biológica (Maffucci et al., 2005). Dado que os exemplares analisados neste estudo correspondem todos a juvenis e subadultos, é expectável que as concentrações de Hg total sejam baixas. Provavelmente, a análise destes exemplares num estágio de vida mais avançado revelaria concentrações deste metal mais elevadas (Jakimska et al., 2011). Na verdade, com algumas exceções, pode-se observar que conforme se aumenta o SCLn-t também aumenta a concentração de Hg total nas diferentes áreas geográficas apresentadas na Tabela 3.3.

Tendo em vista a biomagnificação do Hg ao longo da cadeia trófica, os baixos níveis de contaminação do tecido sanguíneo quer do grupo das tartarugas vivas quer do grupo das tartarugas mortas reforça a ideia de que as tartarugas-comuns que habitam a região oceânica do arquipélago da Madeira se alimentam de presas de baixo nível trófico em comparação com outros organismos marinhos que se alimentam de peixes (Maffucci et al., 2005; Storelli et al., 2005; Jerez et al., 2010). Este estudo fornece pistas sobre a possível ocorrência de biomagnificação na região oceânica da Madeira, uma vez que se

verificou a existência de uma relação entre a concentração média de Hg total e os valores da  $\delta^{15}\text{N}$  no sangue de ambos os grupos de exemplares. Isto significa, que na área de estudo, conforme as tartarugas se alimentam de presas posicionadas num nível trófico superior, maior será a concentração de Hg total presente no seu tecido sanguíneo. Dada a ocorrência de bioacumulação e biomagnificação no Hg (Coelho et al., 2010, 2013; Clayden et al., 2015; Matulik et al., 2017), é expectável que conforme se progrida na cadeia trófica, maior serão os níveis de concentração de Hg, pelo que tartarugas que se alimentem de presas num nível trófico superior apresentarão maiores níveis de concentração de Hg total.

Apesar da diferença registada nos valores da  $\delta^{15}\text{N}$  entre os dois grupos de exemplares, não se observaram diferenças entre os valores das concentrações médias de Hg total no sangue. Vários autores sugerem que a acumulação de metais pesados na tartaruga-comum se deve à ingestão destes contaminantes através da dieta (Caurant et al., 1999; Godley et al., 1999; Sakai et al., 2000; García-Fernández et al., 2009). A diferença obtida nos valores da  $\delta^{15}\text{N}$  entre os dois grupos de exemplares foi inferior a 1‰ (0,9‰), pelo que a prevalência de algumas presas na dieta das tartarugas mortas e das tartarugas vivas poderá explicar a ausência de diferenças ao nível das concentrações médias de Hg total para ambos os grupos de tartarugas.

O padrão de acumulação de Hg total observado neste estudo nos diferentes tecidos (gordura < cérebro < músculo < sangue < fígado) coincide com o padrão de acumulação de metais descrito para as tartarugas marinhas no geral. De facto, as concentrações de Hg total tendem a ser mais elevadas no fígado em comparação com outros tecidos (Storelli e Marcotrigiano, 2003). Analogamente aos estudos de Sakai et al. (2000) e Storelli et al. (2005), as concentrações mais baixas de Hg total foram detetadas no tecido adiposo. Apesar da natureza lipofílica do MeHg, os baixos níveis de Hg total na gordura podem ser explicados pela elevada afinidade química que o MeHg apresenta para o grupo -SH de algumas proteínas. Esta afinidade provoca a perda de capacidade lipofílica do MeHg, o que faz com que a distribuição deste composto não seja afetada pela presença de lípidos nos diferentes tecidos (Storelli et al., 2005).

No presente estudo o sangue foi utilizado como potencial indicador das concentrações internas de Hg total no músculo, fígado, gordura e cérebro. Através da PCA verificou-se que o tecido sanguíneo se encontra bastante relacionado, em termos de concentração média, com o cérebro e o músculo. Esta análise é bastante importante do ponto de vista da espécie, uma vez que permite inferir que as concentrações médias de Hg total no tecido sanguíneo podem representar, ainda que aproximadamente, as concentrações médias de Hg total no cérebro e no músculo dos animais. Segundo esta hipótese, será possível deduzir a concentração média de Hg total no músculo e no cérebro utilizando apenas uma pequena amostra de sangue recolhida de animais capturados vivos, sem necessidade de sacrifício dos animais.

#### *Mercúrio orgânico e mercúrio inorgânico*

Nos organismos marinhos, a maioria do Hg é acumulado sob a forma de Hg orgânico no músculo e Hg inorgânico no fígado (Storelli e Marcotrigiano, 2003). Para as tartarugas marinhas está reportada uma tendência, em termos de proporção, para a acumulação média de Hg orgânico de 80% (55% – 95%) no músculo e 46% (27% – 65%) no fígado (Storelli e Marcotrigiano, 2003). Os resultados obtidos estão de acordo com esta tendência, sendo que houve, em percentagem, uma acumulação superior de Hg orgânico no músculo bastante evidente. Para o fígado esta diferenciação no padrão de acumulação não foi tão evidente, mas ainda assim coincide com o intervalo de percentagens de Hg orgânico acumulado no

fígado reportado por Storelli e Marcotrigiano (2003). A razão para a maior acumulação de Hg orgânico nos tecidos dos juvenis de *Caretta caretta* deve-se ao facto de, apesar de ambas as formas serem acumuladas em proporções idênticas no fitoplâncton, apenas o Hg orgânico é transferido para o zooplâncton (Coelho et al., 2013). Segundo Mason, Reinfelder, and Morel (1995) este mecanismo está relacionado com uma maior concentração de MeHg no citoplasma das algas em comparação com o Hg inorgânico que se encontra maioritariamente associado às membranas celulares e é preferencialmente excretado em vez de ser absorvido quando ingerido pelos consumidores. Outros estudos indicam que esta transferência diferencial de Hg orgânico e inorgânico também ocorre em outros microrganismos unicelulares e os seus predadores (Watras e Bloom, 1992).

#### *Crómio, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsénio, cádmio e chumbo*

Para além do conjunto dos três metais pesados mais analisados (Hg, Cd e Pb), outros metais pesados, como o Zn, Cu, selénio (Se), As e Ni, também são frequentemente estudados. O Cr, Al e Mg são três elementos menos analisados à escala global, porém a análise destes oito elementos é necessária e fundamental, uma vez que são elementos importantes do ponto de vista fisiológico para todos os organismos, incluindo as tartarugas marinhas (Cortés-Gómez et al., 2017).

Os resultados obtidos neste estudo parecem indicar que a região oceânica da Madeira não apresenta valores elevados de metais pesados comparativamente aos valores obtidos nos outros estudos. Através da análise comparativa das concentrações médias de Cu, Zn, As, Cd, Pb e Hg em diferentes regiões geográficas pode-se inferir que existem diferenças nos níveis de contaminantes em diferentes áreas geográficas. Esta diferença pode dever-se a três fatores: diferenças ao nível da contaminação ambiental, diferenças na idade e estágio de desenvolvimento dos exemplares analisados e diferenças nas áreas de alimentação e consequentemente na dieta (Franzellitti et al., 2004; Torrent et al., 2004). Contudo, é preciso ter em consideração o tamanho dos exemplares amostrados, uma vez que a concentração de metais pesados tende a aumentar com a idade e a exposição crónica (Jerez et al., 2010), pelo que os juvenis na fase pelágica podem apresentar diferenças nos padrões de exposição aos contaminantes relativamente aos adultos que se alimentam de presas bentónicas (Maffucci et al., 2005). Também é necessário ter em consideração que a tartaruga-comum é uma espécie que migra continuamente, pelo que o percurso migratório de cada exemplar determinará o grau de exposição a diferentes níveis de contaminação conforme a passagem por diferentes áreas geográficas.

Nesta dissertação poucos metais revelaram organotropismo e não se verificou um padrão geral de acumulação de Cr, Mg, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd e Pb elevado. Isto pode ser explicado pela idade limitada dos exemplares ou pela biodisponibilidade destes metais na área de estudo. Segundo a primeira hipótese, todos os exemplares analisados neste estudo correspondiam a juvenis e subadultos na sua fase juvenil pelágica, o que faz com que o tempo de exposição crónica aos metais referidos tivesse sido curto, não permitindo o alcance de níveis médios de concentração mais elevados como se verifica nos adultos que apresentam um maior tempo de exposição (Jerez et al., 2010). De acordo com a segunda hipótese, poderá existir uma baixa biodisponibilidade destes metais pesados na área de estudo, o que também não permitiria o alcance de concentrações médias elevadas (Torres et al., 2016). Conforme esta suposição, os valores obtidos mais elevados de Fe e Zn no músculo e fígado e de As no músculo pressupõem uma maior abundância destes metais na região oceânica do arquipélago da Madeira.

Como referido nos resultados, não se detetou uma grande variabilidade de concentrações médias entre os exemplares, com algumas exceções. É provável que o estágio de desenvolvimento, as condições

ambientais ou os fatores intrínsecos possam ter determinado a diferença de concentrações médias em alguns exemplares na área de estudo (Cortés-Gómez et al., 2017; Novillo et al., 2017).

Contrariamente a outros estudos (Franzellitti et al., 2004; Maffucci et al., 2005; García-Fernández et al., 2009; Jerez et al., 2010) que reportaram uma relação entre o tamanho corporal e a concentração média de determinados metais pesados, não foi encontrada qualquer relação significativa neste estudo entre o SCLn-t e os metais pesados analisados. Uma razão plausível para esta ausência de relação será, uma vez mais, a homogeneidade de tamanhos do grupo de tartarugas mortas analisadas. Para a obtenção de relações entre o tamanho e as concentrações de metais dever-se-ia incluir na amostragem exemplares dos primeiros estágios de vida desta espécie e exemplares adultos mais desenvolvidos. Contudo, como o objetivo desta dissertação era amostrar os juvenis que habitam a região pelágica da Madeira, tal não foi possível.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo parece haver uma associação entre o músculo e três metais pesados: Zn, As e Pb. Segundo Jerez et al. (2010) as concentrações elevadas de As no músculo indicam a presença de um mecanismo metabólico específico deste elemento, sendo que o músculo funciona como um reservatório a médio termo de Zn enquanto que o tecido ósseo funciona como um reservatório a longo termo. De acordo com este autor a associação encontrada no presente estudo entre o músculo e o As e Zn pode ser explicada pela existência do referido mecanismo metabólico específico de As no tecido muscular e pelo facto deste tecido funcionar como um reservatório a médio termo de Zn, provocando uma acumulação deste metal. Para o Pb não se conhece nenhuma razão que possa explicar os resultados obtidos, pelo que poderá também existir algum mecanismo metabólico específico associado ao Zn no músculo.

Ainda que o Zn tenha surgido associado ao músculo segundo a PCA, pode-se constatar que o seu valor de concentração média no fígado é considerável. Isto deve-se ao facto de os primeiros órgãos a receber Zn quando este é absorvido serem o fígado e os rins (Jerez et al., 2010) e à presença de metalotioneínas – MTs, proteínas de baixo peso molecular (García-Fernández et al., 2009) – que ligam este metal ao tecido hepático (Andreani et al., 2008).

Ainda de acordo com os resultados da PCA, associados ao fígado surgiram seis metais pesados: Mg, Fe, Co, Cu, Cd e Hg. Storelli et al. (2005) sugeriram que as concentrações elevadas de Fe no fígado se devem à elevada vascularização que este órgão apresenta e Andreani et al. (2008) sugeriram que quando este metal se encontra presente em elevadas concentrações, é acumulado no fígado sob uma forma não tóxica (Fe-ferritina). Similarmente ao caso do Zn no fígado, a associação de Cu e Cd no fígado deve-se maioritariamente à presença de MTs que ligam estes metais ao tecido hepático (Maffucci et al., 2005; Andreani et al., 2008). Sakai et al. (2000) afirmaram que as tartarugas marinhas têm mecanismos próprios que promovem a acumulação de Cu no fígado, daí que os valores médios de concentração registados neste órgão sejam mais elevados comparativamente ao músculo. Para o Mg e Co não estão atualmente, e de acordo com o meu conhecimento, propostas possíveis explicações para a sua associação com o tecido hepático.

De todos os metais pesados analisados, destaca-se a acumulação elevada de Fe mais acentuada no fígado, mas ainda assim relevante no músculo dos exemplares analisados. Segundo Franzellitti et al. (2004), a acumulação elevada deste metal nos tecidos de *Caretta caretta* é uma característica comum que as tartarugas marinhas partilham com os pulmonados com capacidade de mergulho desenvolvidas, tal como observado em focas-do-mar-Cáspio (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) e focas-de-Baikal (*Pusa sibirica* Gmelin, 1788), (Watanabe et al., 2002). As focas-de-Baikal, que habitam áreas mais profundas,

adquiriram capacidades de mergulho mais desenvolvidas e concentrações de Fe mais elevadas em comparação com as focas-do-mar-Cáspio que habitam áreas menos profundas (Watanabe et al., 2002). Assim, este autor sugere que, a menor capacidade de mergulho das focas-do-mar-Cáspio associada às características do seu habitat, poderão afetar os padrões de acumulação de metais.



## 5. Conclusões

As tartarugas marinhas desempenham um papel importante nos ecossistemas, uma vez que promovem a renovação de nutrientes nos ecossistemas marinhos através do seu transporte dos oceanos para as praias de nidificação e destas de volta para os oceanos.

A comparação das assinaturas isotópicas do grupo de tartarugas capturadas livres e do grupo de tartarugas mortas associadas aos aparelhos de palangre permitiu caracterizar o nível trófico de ambos os grupos, de acordo com a dieta assimilada por cada grupo. A informação sobre o nível trófico apresentada nesta dissertação é a primeira do género para os juvenis de *Caretta caretta* na região oceânica do arquipélago da Madeira e, como tal, fornece uma contribuição importante para o conhecimento da história de vida dos exemplares desta espécie que frequentam a área de estudo no seu período juvenil pelágico. A hipótese sugerida de especialização trófica, que atrairá uma parte dos indivíduos da população, e aumentará a probabilidade de morte nos aparelhos de palangre tem implicações ao nível da ecologia da espécie. É provável que as tartarugas, como outros organismos, se vão associando à atividade de pesca no sentido de complementar a sua dieta. A variação intrapopulacional na escolha de recursos alimentares também poderá ter consequências a nível evolutivo – uma heterogeneidade de recursos alimentares pressupõe uma redução na competição intraespecífica que pode alterar as pressões seletivas – e sobretudo a nível da conservação (Vander Zanden et al., 2010), dado que o grupo de juvenis que adotam a referida estratégia alimentar apresentam uma menor probabilidade de sobreviver até à fase reprodutiva.

A interpretação dos valores obtidos através da análise de isótopos estáveis nesta dissertação deve ser observada com cuidado, uma vez que os valores isotópicos poderão variar consoante os locais de alimentação e tipo de presas. Para confirmar a hipótese de especialização trófica sugerida seria útil a realização de estudos futuros com um maior número de exemplares e, consequentemente, uma análise mais extensa da dieta dos juvenis de tartaruga-comum na região oceânica do arquipélago da Madeira associada à utilização de telemetria por satélite.

Os répteis podem constituir um grupo mais vulnerável à poluição do que os animais endotérmicos, uma vez que apresentam sistemas de detoxificação menos desenvolvidos (Novillo et al., 2017). As tartarugas marinhas representam um grupo de interesse como potenciais bioindicadores da poluição marinha (Andreani et al., 2008; Jerez et al., 2010; Cortés-Gómez et al., 2017; Novillo et al., 2017) devido ao seu longo ciclo de vida, superior a 50 anos (Maffucci et al., 2005) o que as torna suscetíveis à acumulação de contaminantes ao longo dos anos (Novillo et al., 2017) através da dieta, que aumenta a probabilidade de biomagnificação e acumulação de substâncias perigosas por longos períodos.

A falta de dados toxicológicos sobre os limites acima dos quais os metais pesados têm efeitos tóxicos nas tartarugas marinhas (Storelli & Marcotrigiano, 2003; Storelli et al., 2005; García-Fernández et al., 2009) dificulta a contextualização dos níveis de concentração obtidos nesta dissertação. No que se refere às tartarugas marinhas sabe-se que o As pode causar danos celulares e alterações patológicas no fígado (Torrent et al., 2004) e que o Cd pode conduzir a problemas no sistema imunitário (García-Fernández et al., 2009). Estão descritos outros efeitos prejudiciais para o organismo, como por exemplo, o aparecimento de lesões renais na presença de elevados níveis de Pb em mamíferos marinhos (Torrent et al., 2004), apesar destes efeitos ainda não estarem clarificados nas tartarugas marinhas. Todavia, de acordo com os dados apresentados, parece que os juvenis de *Caretta caretta* que passam pela região oceânica do arquipélago da Madeira não apresentam valores particularmente elevados dos metais

comparativamente a outros estudos, o que poderá indicar que a região oceânica da Madeira representa uma área com baixos níveis de contaminação base para os metais analisados. Isto inclui o Hg, um dos contaminantes marinhos mais perigosos que se conhecem.

A informação referente aos níveis de concentração média dos vários metais pesados analisados nesta dissertação também constitui a primeira base de conhecimento sobre os níveis de acumulação de contaminantes para os juvenis de *Caretta caretta* na região oceânica do arquipélago da Madeira.

Por fim, e com vista à diminuição da mortalidade desta espécie associada aos aparelhos de palangre, seria benéfico o delineamento de diretrizes que permitissem uma exploração sustentável dos recursos marinhos assegurando a conservação da tartaruga-comum. Com base em estudos anteriores, poderia ser eficaz a substituição do tipo de isco e do tipo de anzol utilizado nos palangres derivantes de profundidade. Segundo Coelho et al. (2015) a substituição de lulas (que apresentam uma flutuabilidade positiva) por cavalas (que afundam em água salgada) e a substituição de anzóis com configuração em J por anzóis circulares diminuí eficazmente as taxas de captura accidental, sem prejuízo significativo da rentabilidade das pescarias.

## 6. Referências bibliográficas<sup>1</sup>

- Afonso, C., Lourenço, H.M., Dias, A., Nunes, M.L., Castro, M. (2007): Contaminant metals in black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) caught off Madeira and the Azores. Food Chem. **101**: 120–125.
- Alves, F.M.A., Chicharo, L.M., Serrão, E., Abreu, A.D. (2001): Algal cover and sea urchin spatial distribution at Madeira Island (NE Atlantic). Sci. Mar. **65**: 383–392.
- Andreani, G., Santoro, M., Cottignoli, S., Fabbri, M., Carpena, E., Isani, G. (2008): Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. Sci. Total Environ. **390**: 287–294.
- Arthur, K.E., Boyle, M.C., Limpus, C.J. (2008): Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (*Chelonia mydas*) life history. **362**: 303–311.
- Avens, L., Braun-McNeill, J., Epperly, S., Lohmann, K.J. (2003): Site fidelity and homing behavior in juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Mar. Biol. **143**: 211–220.
- Barron, M.G. (2003): Bioaccumulation and Bioconcentration in Aquatic Organisms. In: Handbook of Ecotoxicology Second Edition, p. 877–893. Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton Jr, A.G., Cairns Jr, J., Eds. Boca Raton, CRC Press,.
- Bearhop, S., Adams, C.E., Waldrons, S., Fuller, R.A., Macleod, H. (2004): Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. J. Anim. Ecol. **73**: 1007–1012.
- Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Dellinger, T., Delgado, C., Martins, H.R. (2003): Compensatory growth in oceanic loggerhead sea turtles: response to a stochastic environment. Ecology **84**: 1237–1249.
- Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Martins, H.R. (2000): Somatic growth model of juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta*: duration of pelagic stage. Mar. Ecol. Prog. Ser. **202**: 265–272.
- Bolten, A.B. (1999): Techniques for measuring sea turtles. In: Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles, p. 110–114. Eckert, K.L., Bjorndal, K.A., Abreu-Grobois, F.A., Donnelly, M., Eds. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No.4,.
- Bolten, A.B. (2003): Active swimmers - passive drifters: the oceanic juvenile stage of loggerheads in the Atlantic system (chapter 4). In: Loggerhead Sea Turtles, p. 63–78. Bolten, A.B., Witherington, B.E., Eds. Washington, D.C., USA, Smithsonian Institution Press,.
- Bolten, A.B., Bjorndal, K.A., Martins, H.R., Dellinger, T., Biscoito, M.J., Encalada, S.E., Bowen, B.W. (1998): Transatlantic developmental migrations of loggerhead sea turtles demonstrated by mtDNA sequence analysis. Ecol. Appl. **8**: 1–7.
- Bolten, A.B., Martins, H.R., Bjorndal, K.A., Gordon, J. (1993): Size distribution of pelagic-stage loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the waters around the Azores and Madeira. Arquipélago, Life Earth Sci. **11**: 49–54.
- Boyle, M.C., Limpus, C.J. (2008): The stomach contents of post-hatchling green and loggerhead sea turtles in the southwest Pacific: an insight into habitat association. Mar. Biol. **155**: 233–241.
- Brill, R.W., Bigelow, K.A., Musyl, M.K., Fritches, K.A., Warrant, E.J. (2005): Bigeye tuna (*Thunnus obesus*) behavior and physiology and their relevance to stock assessments and fishery biology. Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT **57**: 142–161.
- Brongersma, L.D. (1972): European Atlantic turtles. Zool. Verh. **121**: 1–318.
- Burgess, K.B., Bennett, M.B. (2017): Effects of ethanol storage and lipid and urea extraction on  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  isotope ratios in a benthic elasmobranch, the bluespotted maskray *Neotrygon kuhlii*. J. Fish Biol. **90**: 417–423.
- Caldeira, R.M.A., Groom, S., Miller, P., Pilgrim, D., Nezlin, N.P. (2002): Sea-surface signatures of the island mass effect phenomena around Madeira Island, Northeast Atlantic. Remote Sens. Environ. **80**: 336–360.

---

<sup>1</sup> Referências bibliográficas elaboradas segundo a norma de escrita da revista *Amphibia-Reptilia*.

- Caldeira, R.M.A., Russell, P., Amorim, A. (2001): Evidence of an unproductive coastal front in Baía d'Abra, an embayment on the south east of Madeira Island, Portugal. *Bull. Mar. Sci.* **69**: 1057–1072.
- Calderón, J., Ortiz-Pérez, D., Yáñez, L., Díaz-Barriga, F. (2003): Human exposure to metals. Pathways of exposure, biomarkers of effect, and host factors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **56**: 93–103.
- Cardona, L., Revelles, M., Parga, M.L., Tomas, J., Aguilar, A., Alegre, F., Raga, A., Ferrer, X. (2009): Habitat use by loggerhead sea turtles *Caretta caretta* off the coast of eastern Spain results in a high vulnerability to neritic fishing gear. *Mar. Biol.* **156**: 2621–2630.
- Carpentier, A.S., Booth, D.T., Arthur, K.E., Limpus, C.J. (2015): Stable isotope relationships between mothers, eggs and hatchlings in loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. *Mar. Biol.* **162**: 783–797.
- Carr, A. (1986): Rips, fads, and little loggerheads. *Bio Sci.* **36**: 92–100.
- Carr, A. (1987): New perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. *Conserv. Biol.* **1**: 103–121.
- Carreras, C., Cardona, L., Aguilar, A. (2004): Incidental catch of the loggerhead turtle *Caretta caretta* off the Balearic Islands (western Mediterranean). *Biol. Conserv.* **117**: 321–329.
- Caurant, F., Bustamante, P., Bordes, M., Miramand, P. (1999): Bioaccumulation of cadmium, copper and zinc in some tissues of three species of marine turtles stranded along the French Atlantic coasts. *Mar. Pollut. Bull.* **38**: 1085–1091.
- Ceriani, S.A., Roth, J.D., Ehrhart, L.M., Quintana-Ascencio, P.F., Weishampel, J.F. (2014): Developing a common currency for stable isotope analyses of nesting marine turtles. *Mar. Biol.* **161**: 2257–2268.
- Clayden, M.G., Arsenault, L.M., Kidd, K.A., O'Driscoll, N.J., Mallory, M.L. (2015): Mercury bioaccumulation and biomagnification in a small Arctic polynya ecosystem. *Sci. Total Environ.* **509–510**: 206–215.
- Coelho, J.P., Mieiro, C.L., Pereira, E., Duarte, A.C., Pardal, M.A. (2013): Mercury biomagnification in a contaminated estuary food web: Effects of age and trophic position using stable isotope analyses. *Mar. Pollut. Bull.* **69**: 110–115.
- Coelho, J.P., Rosa, M., Pereira, E., Duarte, A., Pardal, M.A. (2006): Pattern and annual rates of *Scrobicularia plana* mercury bioaccumulation in a human induced mercury gradient (Ria de Aveiro, Portugal). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **69**: 629–635.
- Coelho, J.P., Santos, H., Reis, A.T., Falcão, J., Rodrigues, E.T., Pereira, M.E., Duarte, A.C., Pardal, M.A. (2010): Mercury bioaccumulation in the spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*) from the Atlantic Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* **60**: 1372–1375.
- Coelho, J.P.M. (2009): Acumulação de mercúrio em diversos níveis tróficos: Ria de Aveiro como caso de estudo. Tese de doutoramento, Universidade de Aveiro, 31-35 pp.
- Coelho, R., Santos, M.N., Fernandez-Carvalho, J., Amorim, S. (2015): Effects of hook and bait in a tropical northeast Atlantic pelagic longline fishery: Part I-Incidental sea turtle bycatch. *Fish. Res.* **164**: 302–311.
- Cortés-Gómez, A.A., Romero, D., Girondot, M. (2017): The current situation of inorganic elements in marine turtles: A general review and meta-analysis. *Environ. Pollut.* **229**: 567–585.
- Costa, V., Lourenco, H.M., Figueiredo, I., Carvalho, L., Lopes, H., Farias, I., Pires, L., Afonso, C., Vieira, A.R., Nunes, M.L., Gordo, L.S. (2009): Mercury, cadmium and lead in black scabbardfish (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) from mainland Portugal and the Azores and Madeira archipelagos. *Sci. Mar.* **73**: 77–88.
- Costaa, G., Caladob, G., Errab, F., Freitas, M., Krehla, K., Pinheiro de Carvalhoc, M. (2014): Microbiology Water Quality of Three Coastal Beaches at Madeira Island, Atlantic Ocean. *Hydrol. Curr. Res.* **5**: 175.
- Costley, C.T., Mossop, K.F., Dean, J.R., Garden, L.M., Marshall, J., Carroll, J. (2000): Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Anal. Chim. Acta* **405**: 179–183.

- Crouse, D.T., Crowder, L.B., Caswell, H. (1987): A stage-based population model for loggerhead sea turtles and implications for conservation. *Ecology* **6**: 1412–1423.
- Delgado, C., Canário, A., Dellinger, T. (2010): Sex ratios of loggerhead sea turtles *Caretta caretta* during the juvenile pelagic stage. *Mar. Biol.* **157**: 979–990.
- Dellinger, T. (2000): Conservation support project for North Atlantic *Caretta caretta*\* sea turtles - Life Nature Project contract no. B4-3200/96/541 (Life96Nat/P/3019). Final Technical Activity Report. Funchal, CITMA.
- Dellinger, T. (2003a): Behavioural ecology and conservation of oceanic-stage sea turtles: the Madeira Island loggerhead sea turtle project. In: First Macaronesian Sea Turtles Workshop - The Reintroduction of Nesting Populations of Marine Turtles as Tool for the Conservation of *Caretta caretta* in the Central Atlantic, p. Fuerteventura and Gran Canaria, Canary Islands, Spain, Instituto de Ciências Marinas de Canárias,.
- Dellinger, T. (2003b): Trophic ecology and population structure of juvenile, pelagic stage loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the North Atlantic Ocean. Final Project Report to the Portuguese Science and Technology Foundation (FCT) Project Praxis/P/BIA/11310/1998. Funchal, Madeira, Portugal, University of Madeira, CEM-Centre for Macaronesian Studies.
- Dellinger, T. (2008): Tartarugas marinhas. In: Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal, p. 193–209. Loureiro, A., Ferrand de Almeida, N., Carretero, M.A., Paulo, O.S., Eds. Lisboa, Instituto da Conservação da Natureza e Biodiversidade,.
- Dellinger, T., Davenport, J., Wirtz, P. (1997): Comparisons of social structure of Columbus crabs living on loggerhead sea turtles and inanimate flotsam. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* **77**: 185–194.
- Dellinger, T., Ferreira, T. (2005): Diving behaviour of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) and its relation to deep-sea longline fishing, in Madeiran Waters. Final Technical Report to the Portuguese Science Foundation FCT for project PDCTM-POCTI/P/MAR/15248/1999. Funchal, Universidade da Madeira.
- Dellinger, T., Freitas, C. (2000): Movements and diving behaviour of pelagic stage loggerhead sea turtles in the North Atlantic: preliminary results obtained through satellite telemetry. In: Proceedings of the Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, p. 155–157. Kalb, H., Wibbels, T., Eds. South Padre Island, Texas, USA, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-443,.
- DeNiro, M.J., Epstein, S. (1981): Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**: 341–351.
- Dinis, A., Alves, F., Nicolau, C., Ribeiro, C., Kaufmann, M., Cañadas, A., Freitas, L. (2016): Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* group dynamics, site fidelity, residency and movement patterns in the Madeira Archipelago (North-East Atlantic). *African J. Mar. Sci.*
- Dodge, K.L., Logan, J.M., Lutcavage, M.E. (2011): Foraging ecology of leatherback sea turtles in the Western North Atlantic determined through multi-tissue stable isotope analyses. *Mar. Biol.* **158**: 2813–2824.
- Eckert, K.L., Bjørndal, K. a, Abreu-grobois, F.A., Donnelly, M. (1999): Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles Prepared by IUCN / SSC Marine Turtle Specialist Group Edited by. Group **4**: 1–4.
- Encarnação, H.P.O. (1998): Captura accidental de tartarugas marinhas pela frota de pesca madeirense. Relatório de Estágio do Curso de Biologia, Universidade da Madeira, Funchal.
- Ferreira, T.M. d. C. (2001): Abundância relativa de tartaruga-comum *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) na ZEE da Madeira. Relatório de Estágio da Licenciatura em Biologia Aplicada aos Recursos Animais, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa.
- France, R.L. (1995): Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **124**: 307–312.

- France, R.L., Peters, R.H. (1997): Ecosystem differences in the trophic enrichment of  $^{13}\text{C}$  in aquatic food webs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**: 1255–1258.
- Franzellitti, S., Locatelli, C., Gerosa, G., Vallini, C., Fabbri, E. (2004): Heavy metals in tissues of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the northwestern Adriatic Sea. *Comp. Biochem. Physiol. C-Pharmacology, Toxicol. Endocrinol.* **138**: 187–194.
- Frick, M.G., Williams, K.L., Bolten, A.B., Bjorndal, K.A., Martins, H.R. (2009): Foraging ecology of oceanic-stage loggerhead turtles *Caretta caretta*. *Endanger. Species Res.* **9**: 91–97.
- García-Fernández, A.J., Gómez-Ramírez, P., Martínez-López, E., Hernández-García, A., María-Mojica, P., Romero, D., Jiménez, P., Castillo, J.J., Bellido, J.J. (2009): Heavy metals in tissues from loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the southwestern Mediterranean (Spain). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **72**: 557–563.
- Godley, B.J., Thompson, D.R., Furness, R.W. (1999): Do heavy metal concentrations pose a threat to marine turtles from the Mediterranean sea? *Mar. Pollut. Bull.* **38**: 497–502.
- Gordon, A.N., Pople, A.R., Ng, J. (1998): Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from south-eastern Queensland, Australia. *Mar. Freshw. Res.* **49**: 409.
- Granadeiro, J.P., Dias, M.P., Rebelo, R., Santos, C.D., Catry, P. (2006): Numbers and population trends of cory's shearwater *Calonectris diomedea* at Selvagem Grande, Northeast Atlantic. *Waterbirds* **29**: 56–60.
- Gworek, B., Bemowska-Kalabun, O., Kijńska, M., Wrzosek-Jakubowska, J. (2016): Mercury in Marine and Oceanic Waters - a Review. *Water. Air. Soil Pollut.* **227**: 371.
- Hall, A.G., Avens, L., McNeill, J.B., Wallace, B., Goshe, L.R. (2015): Inferring long-term foraging trends of individual juvenile loggerhead sea turtles using stable isotopes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **537**: 265–276.
- Hamann, M., Godfrey, M.H., Seminoff, J.A., Arthur, K., Barata, P.C.R., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Broderick, A.C., Campbell, L.M., Carreras, C., Casale, P., Chaloupka, M., Chan, S.K.F., Coyne, M.S., Crowder, L.B., Diez, C.E., Dutton, P.H., Epperly, S.P., FitzSimmons, N.N. et al. (2010): Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. *Endanger. Species Res.* **11**: 245–269.
- Hatase, H., Takai, N., Matsuzawa, Y., Sakamoto, W., Omuta, K., Goto, K., Arai, N., Fujiwara, T. (2002): Size-related differences in feeding habitat use of adult female loggerhead turtles *Caretta caretta* around Japan determined by stable isotope analyses and satellite telemetry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **233**: 273–281.
- Henwood, T.A. (1987): Movements and seasonal changes in loggerhead turtle *Caretta caretta* aggregations in the vicinity of Cape Canaveral, Florida (1978-84). *Biol. Conserv.* **40**: 191–202.
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K., Namieśnik, J. (2011): Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, part I: the role and impact of heavy metals on organism. *Polish J. Environ. Stud.* **20**: 1127–1146.
- Jerez, S., Motas, M., Cánovas, R.Á., Talavera, J., Almela, R.M., Río, A.B. del (2010): Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. *Chemosphere* **78**: 256–264.
- Jones, T.T., Seminoff, J.A. (2013): Feeding biology: Advances from Field-Based Observations, Physiological Studies, and Molecular Techniques (Chpt.9). In: *The Biology of Sea Turtles*, p. 211–248. Wyneken, J., Lohmann, K.J., Musick, J.A., Eds. Boca Raton, FL, CRC Press,.
- Kaehler, S., Pakhomov, E.A. (2001): Effects of storage and preservation on the  $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$  signatures of selected marine organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **219**: 299–304.
- Layman, C.A., Araujo, M.S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C.M., Harrison, E., Jud, Z.R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D.M., Bearhop, S. (2012): Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biol. Rev.* **87**: 545–562.

- Lemons, G., Eguchi, T., Lyon, V. B., LeRoux, R., Seminoff, J. (2012): Effects of blood anticoagulants on stable isotope values of sea turtle blood tissue. *Aquat. Biol.* **14**: 201–206.
- Lucchetti, A., Sala, A. (2010): An overview of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) bycatch and technical mitigation measures in the Mediterranean Sea. *Rev. Fish Biol. Fish.* **20**: 141–161.
- Lutcavage, M.E., Musick, J.A. (1985): Aspects of the biology of sea turtles in Virginia. *Copeia* **1985**: 449–456.
- Maffucci, F., Caurant, F., Bustamante, P., Bentivegna, F. (2005): Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean Sea (southern Italy). *Chemosphere* **58**: 535–542.
- Mansfield, K.L., Wyneken, J., Porter, W.P., Luo, J. (2014): First satellite tracks of neonate sea turtles redefine the ‘lost years’ oceanic niche. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **281**: 20133039–20133039.
- Marshall, B.G., Forsberg, B.R., Thomé-Souza, M., Peleja, R., Moreira, M.Z., Freitas, C.E.C. (2016): Evidence of mercury biomagnification in the food chain of the cardinal tetra *Paracheirodon axelrodi* (Osteichthyes: Characidae) in the Rio Negro, central Amazon, Brazil. *J. Fish Biol.* **89**: 220–240.
- Mason, R.P., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M. (1995): Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water Air Soil Pollut.* **80**: 915–921.
- Matulik, A.G., Kerstetter, D.W., Hammerschlag, N., Divoll, T., Hammerschmidt, C.R., Evers, D.C. (2017): Bioaccumulation and biomagnification of mercury and methylmercury in four sympatric coastal sharks in a protected subtropical lagoon. *Mar. Pollut. Bull.* **116**: 357–364.
- McCarthy, A.L., Heppell, S., Royer, F., Freitas, C., Dellinger, T. (2010): Identification of likely foraging habitat of pelagic loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the North Atlantic through analysis of telemetry track sinuosity. *Prog. Oceanogr.* **86**: 224–231.
- Mendonça, M.T., Ehrhart, L.M. (1982): Activity population size and structure of immature *Chelonia mydas* and *Caretta caretta* in Mosquito Lagoon, Florida. *Copeia* **1982**: 161–167.
- Minagawa, M., Wada, E. (1984): Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**: 1135–1140.
- Monzón-Argüello, C., Rico, C., Carreras, C., Calabuig, P., Marco, A., Felipe Lopez-Jurado, L. (2009): Variation in spatial distribution of juvenile loggerhead turtles in the eastern Atlantic and western Mediterranean Sea. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **373**: 79–86.
- Moreira, C.S.P. d. F. (2006): Alimentação das tartarugas marinhas comuns (*Caretta caretta*) em águas da Madeira através de análise dos conteúdos estomacais. Relatório de Estágio da Licenciatura em Biologia Marinha e Biotecnologia, Instituto Politécnico de Leiria, Escola Superior de Tecnologia do Mar, Peniche, Portugal.
- Newsome, S.D., Clementz, M.T., Koch, P.L. (2010): Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Mar. Mammal Sci.* **26**: 509–572.
- Nierop, M.M. van, Hartog, J.C. den (1984): A study on the gut contents of five juvenile loggerhead turtles, *Caretta caretta* (Linnaeus) (Reptilia, Cheloniidae), from the south-eastern part of the North Atlantic Ocean, with emphasis on Coelenterate identification. *Zool. Meded.* **59**: 35–54.
- Novillo, O., Pertusa, J.F., Tomás, J. (2017): Exploring the presence of pollutants at sea: Monitoring heavy metals and pesticides in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the western Mediterranean. *Sci. Total Environ.* **598**: 1130–1139.
- Oliveira (coord.), M.E., Brito, J.C., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Loureiro, A., Martins, H.R., Pargana, J., Paulo, O.S., Rito, P., Teixeira, J. (2005): Tartaruga-comum *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758). In: Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal, p. 123–124. Cabral (coord.), M.J., Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., et al., Eds. Lisboa, Instituto da Conservação da Natureza,.
- Parker, D.M., Cooke, W.J., Balazs, G.H. (2005): Diet of oceanic loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the central North Pacific. *Fish. Bull.* **103**: 142–152.

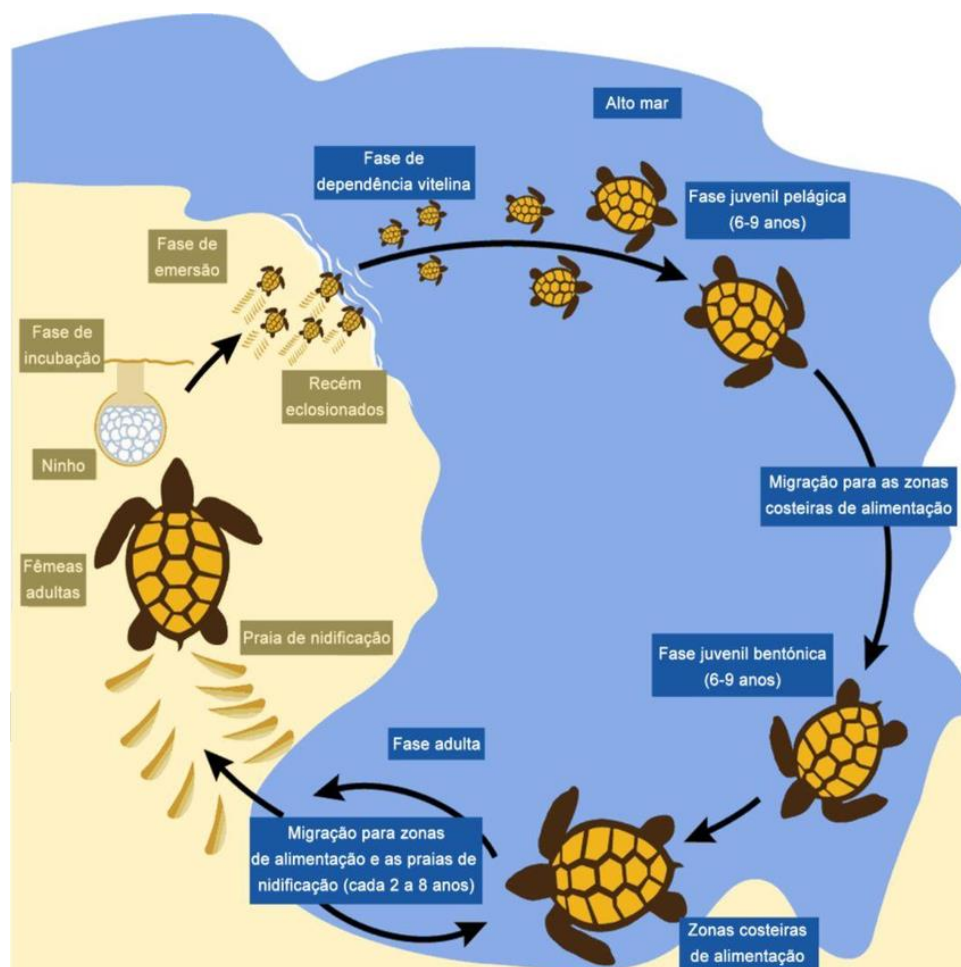
- Payo-Payo, A., Ruiz, B., Cardona, L., Borrell, A. (2013): Effect of tissue decomposition on stable isotope signatures of striped dolphins *Stenella coeruleoalba* and loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. *Aquat. Biol.* **18**: 141–147.
- Peterson, B., Fry, B. (1987): Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 293–320.
- Plotkin, P.T., Wicksten, M.K., Amos, A.F. (1993): Feeding ecology of the loggerhead sea turtle *Caretta caretta* in the Northwestern Gulf of Mexico. *Mar. Biol.* **115**: 1–5.
- Post, D.M. (2002): Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* **83**: 703–718.
- Preston, T., Owens, N.J.P. (1985): Preliminary  $^{13}\text{C}$  Measurements using a Gas Chromatograph Interfaced to an Isotope Ratio Mass Spectrometer. *Biomed. Mass Spectrom.* **12**: 510–513.
- Rainbow, P. (2002): Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ. Pollut.* **120**: 497–507.
- Reich, K.J., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B. (2007): The ‘lost years’ of green turtles: using stable isotopes to study cryptic lifestages. *Biol. Lett.* **3**: 712–714.
- Reich, K.J., Bjorndal, K.A., Rio, C.M. del (2008): Effects of growth and tissue type on the kinetics of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  incorporation in a rapidly growing ectotherm. *Oecologia* **155**: 651–663.
- RELACRE (Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal) (2000): Guia RELACRE 13 Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química.
- Rice, K.M., Walker, E.M., Wu, M., Gillette, C., Blough, E.R. (2014): Environmental mercury and its toxic effects. *J. Prev. Med. Public Heal.* **47**: 74–83.
- Rounick, J.S., Winterbourn, M.J. (1986): Stable Carbon Isotopes and Carbon Flow in Ecosystems. *Bioscience* **36**: 171–177.
- Sakai, H., Ichihashi, H., Suganuma, H., Tatsukawa, R. (1995): Heavy metal monitoring in sea turtles using eggs. *Mar. Pollut. Bull.* **30**: 347–353.
- Sakai, H., Saeki, K., Ichihashi, H., Suganuma, H., Tanabe, S., Tatsukawa, R. (2000): Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* **40**: 701–709.
- Schuyler, Q., Hardesty, B.D., Wilcox, C., Townsend, K. (2014): Global Analysis of Anthropogenic Debris Ingestion by Sea Turtles. *Conserv. Biol.* **28**: 129–139.
- Seney, E.E., Musick, J.A. (2007): Historical Diet Analysis of Loggerhead Sea Turtles (*Caretta Caretta*) in Virginia. *Copeia* **2007**: 478–489.
- Storelli, M.M., Ceci, E., Marcotrigiano, G.O. (1998a): Comparison of total mercury, methylmercury, and selenium in muscle tissues and in the liver of *Stenella coeruleoalba* (Meyen) and *Caretta caretta* (Linnaeus). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **61**: 541–547.
- Storelli, M.M., Ceci, E., Marcotrigiano, G.O. (1998b): Distribution of heavy metal residues in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus) specimen beached along the Adriatic sea (Italy). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **60**: 546–552.
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O. (2003): Heavy metal residues in tissues of marine turtles. *Mar. Pollut. Bull.* **46**: 397–400.
- Storelli, M.M., Storelli, A., D’Addabbo, R., Marano, C., Bruno, R., Marcotrigiano, G.O. (2005): Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. *Environ. Pollut.* **135**: 163–170.
- Tchounwou, P.B., Ayensu, W.K., Ninashvili, N., Sutton, D. (2003): Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ. Toxicol.* **18**: 149–175.
- Tieszen, L.L., Boutton, T.W., Tesdahl, K.G., Slade, N.A. (1983): Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia* **57**: 32–37.
- Torrent, A., González-Díaz, O.M., Monagas, P., Orós, J. (2004): Tissue distribution of metals in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) stranded in the Canary Islands, Spain. *Mar. Pollut. Bull.* **49**: 854–



- Torres, P., Rodrigues, A., Soares, L., Garcia, P. (2016): Metal concentrations in two commercial tuna species from an active volcanic region in the Mid-Atlantic Ocean. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **70**: 341–347.
- Trevizani, T.H., Figueira, R.C.L., Ribeiro, A.P., Theophilo, C.Y.S., Majer, A.P., Petti, M.A.V., Corbisier, T.N., Montone, R.C. (2016): Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Mar. Pollut. Bull.* **106**: 366–371.
- Válega, M., Abreu, S., Pato, P., Rocha, L., Gomes, A.R., Pereira, M.E. (2006): Determination of organic mercury in biota, plants and contaminated sediments using a thermal atomic absorption spectrometry technique. *Water, Air Soil Pollut.* **174**: 223–234.
- Wallace, B.P., Avens, L., Braun-McNeill, J., McClellan, C.M. (2009): The diet composition of immature loggerheads: Insights on trophic niche, growth rates, and fisheries interactions. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **373**: 50–57.
- Wallace, B.P., Lewison, R.L., McDonald, S.L., McDonald, R.K., Kot, C.Y., Kelez, S., Bjorkland, R.K., Finkbeiner, E.M., Helmbrecht, S., Crowder, L.B. (2010): Global patterns of marine turtle bycatch. *Conserv. Lett.* **3**: 131–142.
- Wang, W.X., Fisher, N.S. (1999): Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *Sci. Total Environ.* **237–238**: 459–472.
- Watanabe, I., Kunito, T., Tanabe, S., Amano, M., Koyama, Y., Miyazaki, N., Petrov, E.A., Tatsukawa, R. (2002): Accumulation of heavy metals in Caspian seals (*Phoca caspica*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **43**: 109–120.
- Watras, C.J., Bloom, N.S. (1992): Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. *Limnol. Oceanogr.* **37**: 1313–1318.
- Wirtz, P. (2007): On a collection of hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from the Madeira archipelago. *Arquipélago - Life Mar. Sci.* **24**: 11–16.
- Wirtz, P., Fricke, R., Biscoito, M.J. (2008): The coastal fishes of Madeira Island - new records and an annotated check-list. *Zootaxa* **1715**: 1–26.
- Witherington, B., Hiram, S., Hardy, R. (2012): Young sea turtles of the pelagic *Sargassum*-dominated drift community: habitat use, population density, and threats. *Mar. Ecol. Ser.* **463**: 1–22.
- Witherington, B.E. (2002): Ecology of neonate loggerhead turtles inhabiting lines of downwelling near a Gulf Stream front. *Mar. Biol.* **140**: 843–853.
- Wolke, R.E., George, A. (1981): Sea turtle necropsy manual. NOAA Tech. Memo. **NMFS-SEFC-**: 1–24.
- Zanden, H.B. Vander, Bjorndal, K.A., Reich, K.J., Bolten, A.B. (2010): Individual specialists in a generalist population: results from a long-term stable isotope series. *Biol. Lett.* **6**: 711–714.



## 7. Anexos



Anexo 1. Esquema do ciclo de vida da tartaruga-comum (Dellinger, 2008).

Exemplar ID	Espécie	Tipo Sexo	SCLn-t (mm)	Peso (g)	Condição	Tecido
1812	Cc	2	285	4412	Vivo	S
1813	Cc	2	349	7104	Vivo	S
1814	Cc	2	433	15524	Vivo	S
1815	Cc	2	259	2890	Vivo	S
1816	Cc	2	195	1224	Vivo	S
1817	Cc	2	551	28850	Vivo	S
1818	Cc	2	199	1278	Vivo	S
1819	Cc	2	208	1498	Vivo	S
1820	Cc	2	459	15840	Vivo	S
1821	Cc	2	368	8812	Vivo	S
1822	Cc	2	300	4686	Vivo	S
1823	Cc	2	431	13640	Vivo	S
1824	Cc	2	347	6166	Vivo	S
1825	Cc	2	332	5790	Vivo	S
1826	Cc	ND	ND	2128	Vivo	S
1827	Cc	2	262	2958	Vivo	S
1828	Cc	2	248	2708	Vivo	S
1829	Cc	2	261	2562	Vivo	S
1830	Cc	2	317	4726	Vivo	S
1831	Cc	2	269	2956	Vivo	S
1832	Cc	2	225	1962	Vivo	S
1833	Cc	2	257	2910	Vivo	S
1834	Cc	2	571	23970	Vivo	S
1835	Cc	2	507	21160	Vivo	S
1836	Cc	2	493	18800	Morto	S, M, F, G, C
1837	Cc	2	449	14560	Morto	S, M, F, G, C
1838	Cc	2	264	3078	Morto	S, M, F, G, C
1839	Cc	2	369	7736	Morto	S, M, F, G, C
1840	Cc	2	343	6376	Morto	S, M, F, G, C
1841	Cc	2	350	6612	Morto	S, M, F, G, C
1842	Cc	2	336	6212	Morto	S, M, F, G, C
1843	Cc	2	370	7565	Morto	S, M, F, G, C
1844	Cc	2	348	6874	Morto	S, M, F, G, C
1845	Cc	2	394	9798	Morto	S, M, F, G, C
1846	Cc	2	453	14664	Morto	S, M, F, G, C
1847	Cc	2	400	9930	Morto	S, M, F, G, C
ESO 1837	Pj	ND	-	-	Morto	M
EST 1838	Pj	ND	-	-	Morto	M
ESO 1842	Pj	ND	-	-	Morto	M
ESO 1845	Pj	ND	-	-	Morto	M
ESO 1847	Pj	ND	-	-	Morto	M
EST 1847	Pj	ND	-	-	Morto	M
Ob 20170131	Pj	ND	-	-	Morto	M

Cc = *Caretta caretta*; Ob = *Ommastrephes bartramii*; F = feminino, M = masculino, ND = não determinado, S = sangue, M = músculo, F = Fígado, G = gordura, C = cérebro.

**Anexo 2.** Tipo/sexo, tamanho corporal (SCLn-t) peso, condição e tecidos recolhidos de 24 exemplares de tartaruga-comum capturados vivos e 12 exemplares capturados acidentalmente no palangre derivante de profundidade entre Julho e Outubro de 2016 no arquipélago da Madeira. Condição e tipo de tecido recolhidos de 7 exemplares de lulas do Pacífico Norte.

FOLHA DE REGISTO PARA QUANTIFICAÇÃO DAS DESCARGAS E CAPTURA ACIDENTAL DE TARTARUGAS MARINHAS

EMBARCAÇÃO:

MESTRE:

DATA DE PARTIDA:

DATA DE REGRESSO:

Nº LANCES	POSIÇÃO GEOGRÁFICA			Nº APARELHOS	Nº ANZÓIS	ISCO	PALANGRE		ESPADA PRETO (n)	TARTARUGAS MARINHAS (n)		DATA
	LOCAL	LATITUDE	LONGITUDE				HORA LANÇAMENTO	HORA RECOLHA		MORTAS	VIVAS	
1º LANCE												
2º LANCE												
3º LANCE												
4º LANCE												
5º LANCE												
6º LANCE												
7º LANCE												
8º LANCE												

**TARTARUGAS MARINHAS MORTAS:**

OUTROS "BY-CATCH"

TARTARUGA	LATITUDE	LONGITUDE	HORA	DATA
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

PEIXES:

CEFALÓPODES:

AVES:

OBSERVAÇÕES:

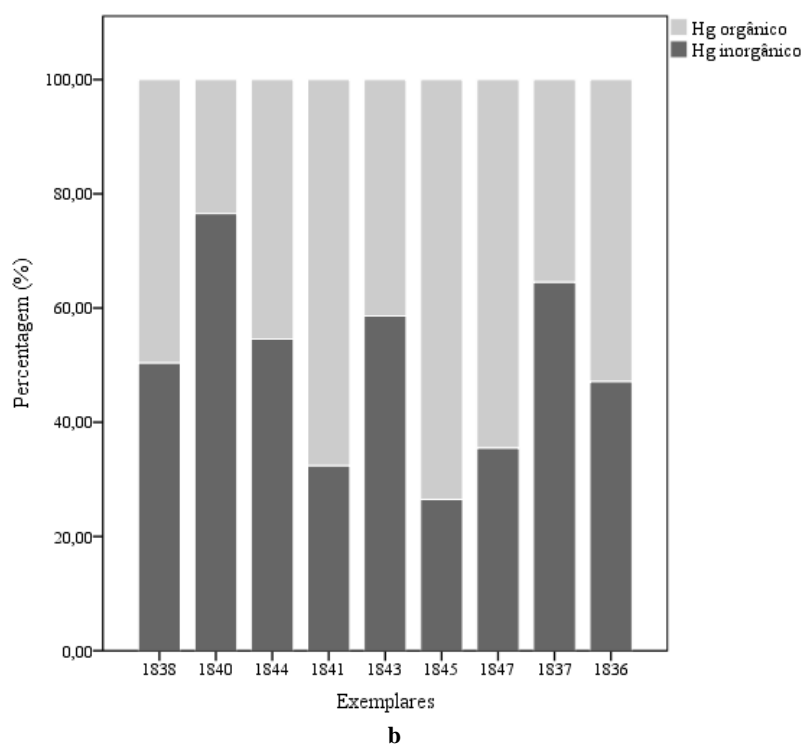
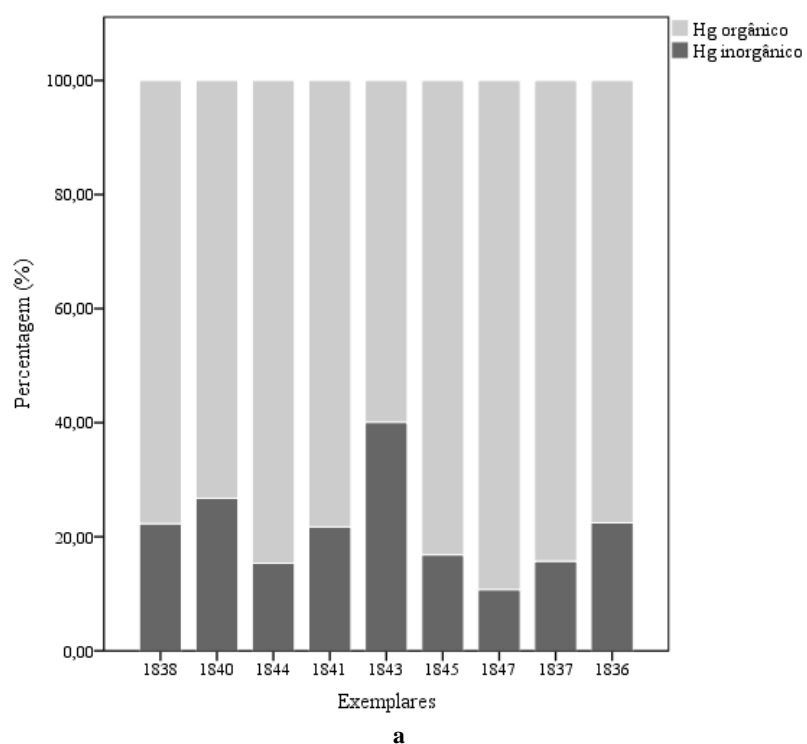
**Anexo 3.** Modelo dos questionários entregues aos mestres das embarcações para o registo da captura accidental de tartarugas marinhas no palangre derivante de profundidade durante a pesca do peixe-espada-preto.



**Anexo 4.** Pormenor da ausência da placa supra caudal do exemplar 1826.

Exemplares	Hg total				
	Sangue	Músculo	Fígado	Gordura	Cérebro
1818	0,25	–	–	–	–
1819	0,37	–	–	–	–
1832	0,14	–	–	–	–
1828	0,24	–	–	–	–
1833	0,27	–	–	–	–
1829	0,26	–	–	–	–
1827	0,58	–	–	–	–
1831	0,22	–	–	–	–
1812	0,22	–	–	–	–
1822	0,28	–	–	–	–
1830	0,13	–	–	–	–
1825	0,43	–	–	–	–
1824	0,22	–	–	–	–
1813	0,28	–	–	–	–
1821	0,15	–	–	–	–
1823	0,09	–	–	–	–
1814	0,10	–	–	–	–
1820	0,19	–	–	–	–
1835	0,39	–	–	–	–
1817	0,25	–	–	–	–
1834	0,36	–	–	–	–
1826	0,15	–	–	–	–
1838	0,21	0,22	0,49	0,02	0,14
1842	0,22	0,24	0,66	0,03	0,15
1840	0,19	0,10	0,38	0,07	0,09
1844	0,37	0,25	0,37	0,03	0,19
1841	0,25	0,17	0,41	0,04	0,15
1839	0,34	0,24	0,60	0,13	0,19
1843	0,26	0,15	0,27	0,02	0,09
1845	0,69	0,56	0,84	0,12	0,42
1847	0,22	0,31	0,51	0,03	0,23
1837	0,15	0,15	0,45	0,02	0,12
1846	0,24	0,15	0,60	0,18	0,15
1836	0,56	0,34	0,77	0,04	0,31

**Anexo 5.** Concentrações de mercúrio total ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco) nos diferentes tecidos analisados para os exemplares vivos ( $n = 22$ ) e para os exemplares mortos ( $n = 12$ ) de *Caretta caretta* na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm).



**Anexo 6.** Percentagem de mercúrio orgânico e mercúrio inorgânico presente nas amostras de músculo e fígado das tartarugas mortas ( $n = 9$ ). **a** músculo das tartarugas mortas; **b** fígado das tartarugas mortas.



Exemplares	Músculo									
	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1838	10,48	0,67	145,61	0,08	0,15	1,64	79,11	87,63	0,39	0,54
1842	3,25	0,35	58,14	0,02	0,07	1,30	64,91	45,79	0,39	0,02
1840	4,11	1,10	164,72	0,06	0,10	5,01	67,58	40,34	0,81	0,24
1844	3,03	0,87	112,56	0,10	0,22	3,27	79,27	88,71	0,33	0,15
1841	3,60	0,49	86,33	0,11	0,08	2,13	70,05	58,44	0,64	0,25
1839	4,85	0,75	92,03	0,06	0,10	2,11	62,68	20,89	0,31	0,36
1843	9,17	0,61	123,46	0,13	0,19	1,99	113,62	37,61	0,88	13,82
1845	4,91	0,68	119,69	0,03	0,16	2,31	72,71	27,47	0,40	0,12
1847	47,20	1,93	578,49	0,14	0,52	2,89	62,61	85,87	0,32	0,22
1837	5,91	0,46	74,86	0,07	0,12	2,09	69,32	70,06	0,21	0,23
1846	3,86	0,60	86,24	0,04	ALD	2,66	74,40	78,99	0,34	0,11
1836	3,46	0,98	113,58	0,15	0,17	4,33	82,65	35,63	0,33	0,06

ADL = abaixo do limite de detecção

**Anexo 7.** Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco) no músculo dos exemplares mortos de *Caretta caretta* ( $n = 12$ ) na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm).

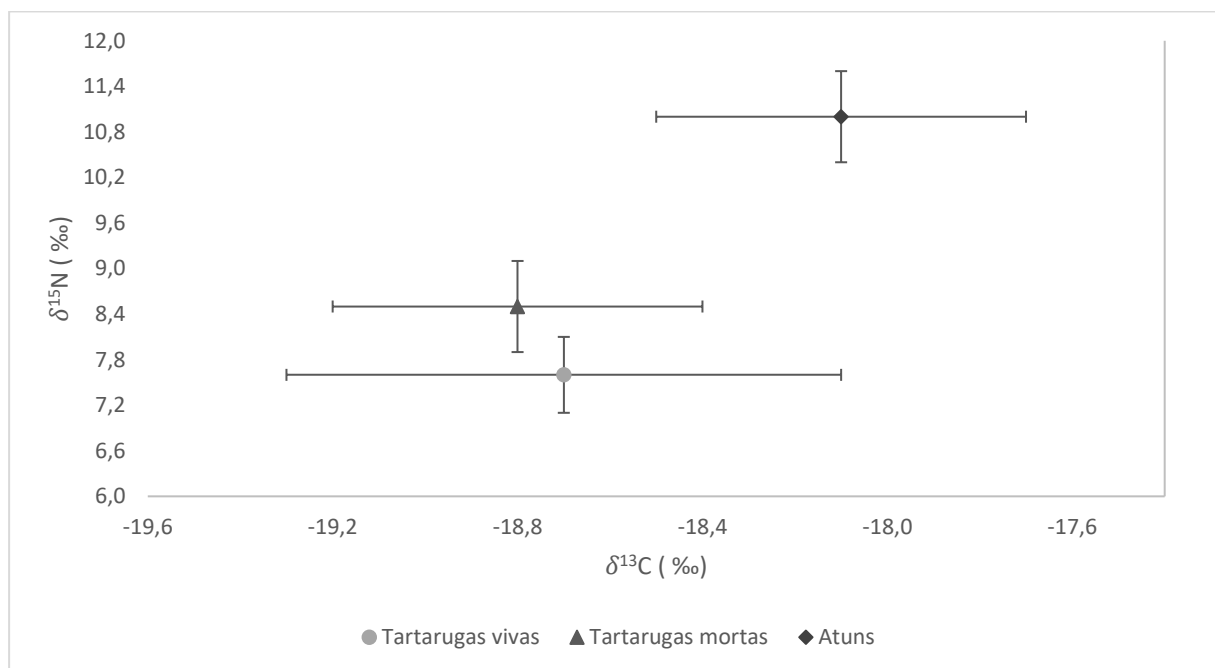
Exemplares	Fígado									
	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
1838	0,85	4,32	663,17	0,38	0,25	11,88	74,89	26,82	17,82	0,14
1842	0,67	3,25	1750,75	0,14	0,11	11,11	70,80	12,36	16,86	0,24
1840	0,72	3,30	1106,84	0,32	0,18	10,67	77,84	17,65	12,83	0,08
1844	0,38	3,67	991,45	0,32	0,15	9,76	62,60	34,21	7,35	0,23
1841	0,82	3,44	769,07	0,38	0,07	7,65	56,86	16,70	8,29	1,07
1839	1,86	4,34	525,41	0,32	0,31	8,07	60,32	8,69	9,93	0,21
1843	0,89	2,42	1455,05	0,30	0,10	9,54	62,67	6,88	12,44	1,16
1845	0,62	2,71	1402,46	0,12	0,10	7,89	77,34	7,77	10,85	0,14
1847	0,89	4,41	2139,26	0,19	0,26	11,46	81,26	21,67	17,39	0,28
1837	0,59	4,28	782,78	0,19	0,08	12,21	58,80	22,92	9,57	0,09
1846	0,64	4,71	703,72	0,19	0,10	28,24	65,70	25,23	21,09	0,13
1836	0,37	7,21	378,01	0,68	0,15	14,67	70,04	13,02	4,80	0,23

**Anexo 8.** Concentrações de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso seco) no fígado dos exemplares mortos de *Caretta caretta* ( $n = 12$ ) na região oceânica da Madeira. Exemplares ordenados por ordem crescente do SCLn-t (mm).

### Código do estado de decomposição de tartarugas marinhas mortas

Nível	Caracterização
1	Tartaruga ainda fresca, acabada de morrer ou congelada logo após a morte (ex. recolhidas nos aparelhos de peixe-espada-preto)
2	Acumula-se sangue na cavidade abdominal; algumas alterações de cor (a pele da região ventral altera-se de rosa para púrpura)
3	Alterações de cor (aparecem linhas de cor verde-púrpura, particularmente na região circundante do pescoço e barbatanas); produção de gás nauseabundo evidente e ligeira autólise dos órgãos internos
4	Carapaça inchada, de forma que se liberta gás de cheiro intenso e nauseabundo quando se insere uma faca; a musculatura já se separa dos ossos; órgãos internos desfazem-se
5	Avançado estado de decomposição; faltam partes do corpo, nomeadamente barbatanas, olhos, plastron

**Anexo 9.** Código do estado de decomposição de tartarugas marinhas mortas utilizado nos relatórios de necropsias.



**Anexo 10.** Assinaturas isotópicas médias de azoto,  $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono,  $\delta^{13}\text{C}$ , de *Caretta caretta* com base nas amostras de sangue recolhidas das tartarugas capturadas vivas ( $n = 24$ ) e das tartarugas mortas ( $n = 12$ ) e assinatura isotópica média de azoto,  $\delta^{15}\text{N}$ , e de carbono,  $\delta^{13}\text{C}$ , de *Thunnus obesus* ( $n = 20$ ) com base nas amostras de sangue dos exemplares capturados na pesca comercial entre Abril e Julho de 2016 na região oceânica do arquipélago da Madeira (*dados não publicados*). Os valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão.